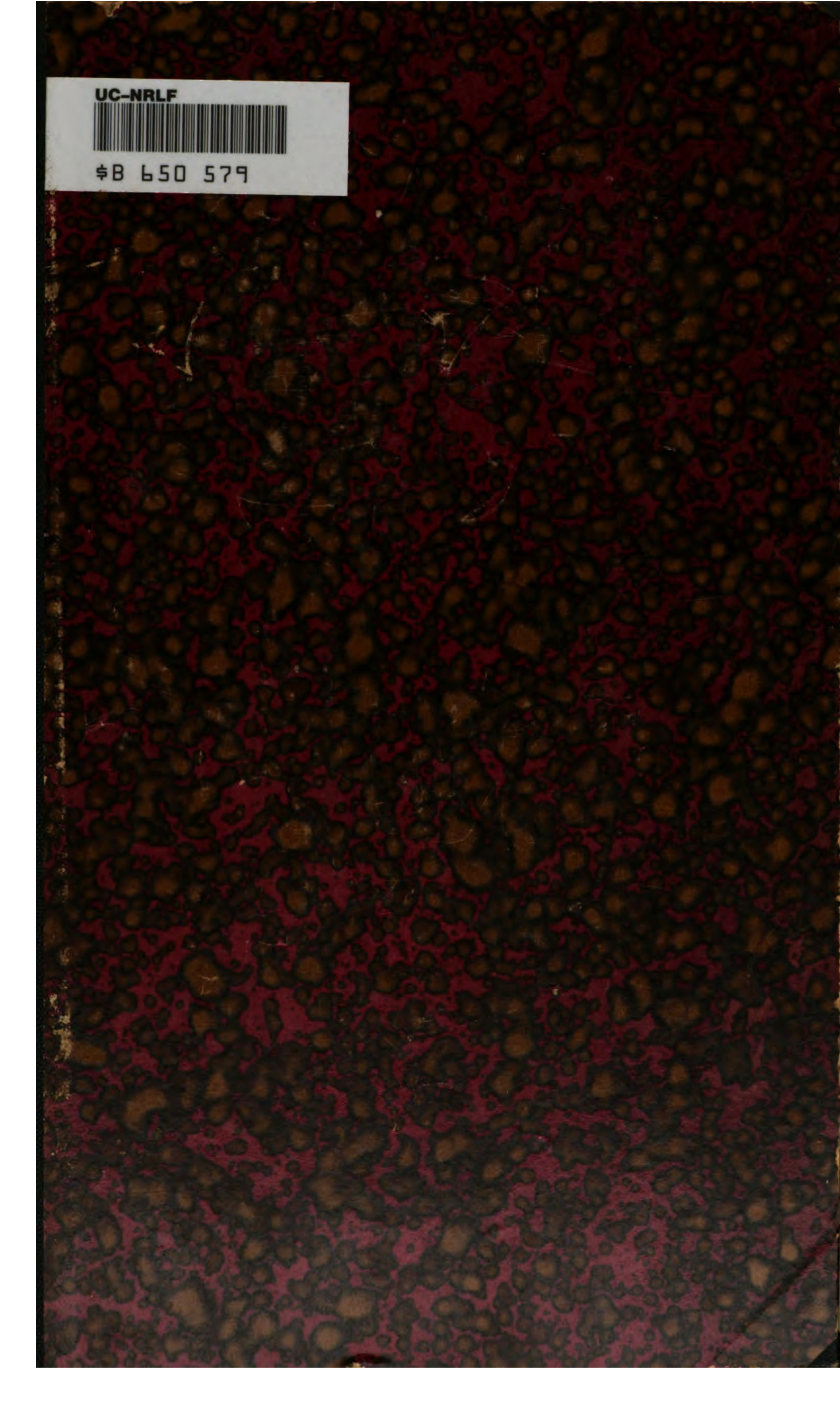
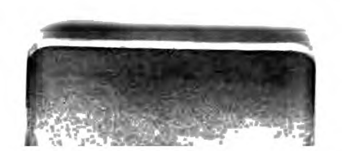




Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. E., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin.

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **Chr. Bohr**-Kopenhagen, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Heidelberg, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Berlin, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Heidelberg, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos-Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-NewYork **L. von Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-Berkeley, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Königsberg, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Prag, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **Zd. H. Skraup**-Wien, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunzehnter Band.

Mit 4 Tafeln.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1909.

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Über die physiologische Wirkung kolloidaler Metalle.[1])

Von

Carlo Foà und Alberto Aggazzotti.

(Eingegangen am 24. Januar 1909.)

Mit 9 Figuren und 2 Tafeln.

Allgemeiner Teil.

Nachdem Bredig die katalytischen Wirkungen, die einige kolloidale Metalle auszuüben imstande sind, entdeckt und analysiert und diese Metalle „anorganische Fermente" genannt hat, begaben sich viele Forscher an die Untersuchung der physiologischen und therapeutischen Wirkung solcher Metalle. Nägeli[2]) fand, daß viel Metalle (Cu, Ag, Pb, Zn, Fe, Hg) sich im Wasser in sehr geringen Mengen auflösen und ihm Eigenschaften mitteilen, die er „olygodynamische" nennt, um sie von den chemisch-pharmakologischen Eigenschaften zu unterscheiden, welche dieselben Metalle bewirken, wenn sie als Salze vorhanden stärker konzentriert sind. Die geringe Menge Metall, die sich im Wasser löst, ist wahrscheinlich im kolloidalen Zustande darin zugegen und hat so die katalytischen Kräfte, welche Bredig später entdeckte, als er auch ein Verfahren gefunden hatte, mit Leichtigkeit konzentriertere kolloidale Flüssigkeiten zu erhalten. Solche Lösungen wirken auf die einzelligen Organismen, indem sie Erscheinungen von Plasmolyse erzeugen.

---

[1]) Diese Arbeit enthält außer neuen Resultaten auch jene, welche wir schon in einigen Anmerkungen der k. Acad. der Medizin veröffentlichten. Turin 1907. Einige Arbeiten, die wir im Laufe dieser Aufzeichnungen anführen werden, sind deshalb später als unsere ersten Veröffentlichungen erschienen.

[2]) Nägeli, Über die olygodynamischen Erscheinungen an lebenden Zellen.

Galeotti[1]), die Versuche Nägelis fortsetzend, untersuchte die Wirkung, die das nach Bredigs Methode hergestellte kolloidale Kupfer auf die Zellen von Spirogira ausübt und fand, daß schon bei einer äußerst geringen Konzentration das Kupfer eine schädigende Wirkung auf das cellulare Protoplasma hat, eine Wirkung wahrscheinlich katalytischer Natur und fähig, den cellularen Metabolismus tiefgehend zu modifizieren. Galeotti und Todde[2]) untersuchten an Meerschweinchen die Wirkung intraperitonealer Einspritzungen kolloidalen Silbers. Sie spritzten 20 bis 30 ccm der Lösung in einer Zeit von durchschnittlich 1 Monat ein und fanden, daß die Einspritzungen einen ganz bedeutenden Verfall des Tieres und starke Atrophie einiger anatomischer Elemente verursachen, so daß man annehmen kann, die Metalle wirken im kolloidalen Zustande auf den allgemeinen Stoffwechsel, indem sie den cellularen Stoffwechsel modifizieren. Viele andere Forscher untersuchten die pharmakologische Wirkung der verschiedenen kolloidalen Metalle, und sie werden wir im Laufe der gegenwärtigen Arbeit erwähnen. Wir werden vor allem die auf chemischem Wege hergestellten Kolloide (Collargol, Hyrgol, Eisenhydrat, Wismut, Arsensulfid) von jenen nach Bredigs Methode hergestellten (Platin, Gold, Silber, Mangan, Quecksilber) unterscheiden müssen; um ihre katalytische Einwirkung auf das Wasserstoffsuperoxyd zu messen, benutzten wir die von V. Henri[3]) angegebene Methode und bedienten uns der Formel.

$$K = \frac{1}{t} \log \cdot \frac{a}{a - x},$$

wobei t die Dauer in Minuten, a die Konzentration des Wasserstoffsuperoxyds am Anfang des Versuches, x die Quantität, welche in der Zeit t zerlegt ist, angibt. Der Versuch wurde so durchgeführt, daß man 50 ccm einer Perhydrollösung Merk zu $^1/_{200}$ mit $^1/_2$ ccm kolloidaler Lösung bei konstanter Temperatur reagieren ließ. Die Titrierung der Mischung wurde alle halbe

[1]) Galeotti, Über die Wirkung kolloidaler und elektrolytisch dissoziierter Metallösungen auf die Zellen. Biol. Centralbl. 21, Nr. 11, 1. Juni 1901.

[2]) Galeotti und Todde, Alterazioni istologiche provocate da soluzioni di metalli colloidali etc. Lo sperimentale 56, 341, 1902.

[3]) Cernovodeanu u. V. Henri, Compt. rend. Soc. Biol. 1906.

Stunden mit $1^1/_{00}$ übermangansaurem Kali und mit 5 ccm $^1/_5$ Schwefelsäurelösung vorgenommen.

Der Wert K_1 resultiert aus jenem von K, multipliziert mit dem Verhältnis zwischen dem Volumen des Kolloids und jenem des Wasserstoffsuperoxyds, d. h. in unserem Fall mit 100. Es wird dann nochmals mit 100 multipliziert, um die Nullen zu vermeiden.

Untersuchungen über das Collargol.

Das Collargol wird in Form von kleinen braunschwarzen Splittern, die sich leicht im Wasser lösen und ziemlich stabile, dunkelbraun gefärbte Lösungen geben, in den Handel gebracht. Das Collargol wird im allgemeinen für kolloidales Silber gehalten, aber eigentlich ist es kein reines, lösliches Silber. Nach den Angaben Carey Leas[1]), aus Silbernitrat mit Zusatz von Eisensulfid, Natronlauge und Citronensäure, oder nach Daulus und Cothereans[2]), auch aus Silbernitrat unter Hinzufügung von Citronensäure, Ammoniak und ammoniakalischem Eisensulfat hergestellt, ist es in jedem Fall eine Mischung verschiedener Substanzen, und wenn man es zu reinigen versucht, verliert es seine wesentlichen Eigenschaften. Chassevant und Posternack[3]) fanden, daß das Collargol nur 90,8 % Silber und jenes von Heyden nur 87 % sowie Salpetersäure enthält [Henriot[4])].

Henriot betrachtet das Collargol als ein lösliches, basisches Salz der Collargolsäure, das in seinem Molekül eine organische stickstoffhaltige Substanz und das Silber als Oxyd enthält. Auch das Collargol von Schneider[5]) ist nach Henriot sehr unrein.

Das Collargol ist also kein reines, kolloidales Silber; vielleicht wegen der Unreinheiten, die es enthält, dazu auch wegen

---

1) Carey Lea, Sillim. Amer. Journ. of Sc., 1889; u. Zeitschr. f. anorgan. Chem. 3 u. 4.

2) Daulus u. Cotherean, Soc. Thérap., 24. Dezember 1902.

3) Chassevant u. Posternack, Union pharmaceutique 1903, 308; Bull. Soc. Ch. 29, 543; Compt. rend. Soc. Biol. 1903, 433.

4) Henriot, C. R. Ac. Sc. 136, 122, 680 u. 1448, 1903.

5) Schneider, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 339; und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 3370; 25, 1281 u. 1440.

der Größe seiner Körnchen hat es eine geringere katalytische Kraft als das nach Bredigs Methode hergestellte kolloidale Silber und hat auch, wie wir sehen werden, eine andere physiologische Wirkung.

Für unsere Versuche benutzten wir eine 25‰ige Collargollösung. Eine konzentriertere Lösung war während 3 Monaten in Kolloidsäckchen gegen destilliertes, oft erneuertes Wasser dialysiert worden. In dieser Lösung, welche anfangs ein gutes Leitungsvermögen hatte, nach der langen Dialyse aber ein Leitungsvermögen von $9{,}10^{-6}$ erlangte, wurde das Silber in Form von Chlorsilber bestimmt.

Für unsere 0,25‰ige Collargollösung ist $K_1 = 13{,}5$.

In vitro agglutiniert das Collargol die roten Blutkörperchen nicht, gibt keine Präcipitation weder mit Serum noch mit defibriniertem Blut, wenn es im Verhältnis von 1 Teil Collargol (0,25‰) auf 5 Teile Blutserum oder Blut oder Suspension der roten Körperchen in physiologischer Kochsalzlösung vermischt wird.

Bei unseren Versuchen wurde das Collargol zu 0,25‰ stabilisiert eingespritzt und mit Chlornatrium isotonisch gemacht.

Über die physiologische Wirkung des Collargols finden sich in der Literatur eher Untersuchungen klinischen als experimentellen Charakters. Die Autoren gaben im allgemeinen an, daß auf eine Collargoleinspritzung ein Steigen der Temperatur des Tieres folgt. Neuerdings fanden Lépine und Boulud[1]), daß bei einem Hund von 19 kg Gewicht die Temperatur infolge einer intravenösen Collargoleinspritzung von 7 cg nach Verlauf von 3 Stunden von 39,3° auf 40,2° stieg. Brunner[2]) fand nach einer intravenösen Collargoleinspritzung an ein Kaninchen, daß das Collargol sich in allen Organen und besonders in den Nieren und der Leber festsetzt. Cohn[3]) fand, daß das Collargol sich in Form von schwarzen Silberkörnchen in den Glomeruli der Nieren, im Epithel der Nierenkanälchen, im Bindegewebe der Lunge, in der Milzpulpa, in den Lymphdrüsen und in der Leber festsetzt (Kupferschen Zellen). Aus dem Blut verschwindet das Collargol 45 Minuten nach der Einspritzung.

---

[1]) Lépine u. Boulud, Compt. rend. Soc. Biol. 1907, 206.
[2]) Brunner, Fortschritte der Medizin 18, 81, 1900.
[3]) Cohn, Centralbl. f. Bakt. 32, 782 u. 804, 1900.

Neuerdings untersuchte R. Luzzatto[1]) die physiologische Wirkung des Collargols und kam zu folgenden Schlüssen:

Auf gastrischem oder hypodermischem Wege wird es nicht resorbiert, weil es als reduziertes Silber ausfällt, durch Einreiben in Form von Crédé-Salbe wird es wenig resorbiert und vielleicht nur wegen den Silbersalze, mit denen es vermischt ist. In die Adern eingeführt, verursacht es leicht Lungenverletzungen und wird durch den größten Teil des Knochenmarks, die Leber und die Milz festgehalten, wo es sich in Form von reduziertem Silber findet.

Die zahlreichen Arbeiten über die mikrobentötende und therapeutische Wirkung des Collargols werden weiter unten besprochen werden.

Jetzt wollen wir über unsere Versuche berichten.

Versuch 1.

Hund Nr. VIII, 10 kg. Die Temperatur mit einem hundertteiligen Thermometer gemessen, schwankt während 45 Minuten zwischen 38,06° und 38,5° auf und ab. Als die Einspritzung in die Saphena gemacht wird, ist die Temperatur 38,32°. Es werden in der Zeit von 9 Minuten 100 ccm Collargol eingespritzt.

Die Temperatur sinkt sofort auf 38,06° und bleibt 4 Stunden lang zwischen 38,3° und 37,96°. Der Hund ist in tiefem Kollaps und reagiert nicht auf schmerzhafte Reize. So verblieb das Tier den ganzen Tag über und am folgenden Morgen wurde es tot aufgefunden.

Bei der Sektion sind alle Organe dunkelbraun schieferig gefärbt, ebenso auch das flüssig aus der rechten Herzkammer, der Cava und den Mesenterialgefäßen ausgetretene Blut. Alle Organe, bis auf die Farbe, erscheinen normal. Die Blase ist voll braunen trüben Urins. Bei der spektroskopischen Untersuchung und der Probe mit Guaiakharz findet man Hämoglobin. Beim Kochen bildet sich ein Albuminkoagulum, und das zentrifugierte Sediment enthält granulierte Zylinder und gelbbraunen körnigen Detritus.

Versuch 2.

Hund Nr. XII, 10 kg. Der Blutdruck in der Carotis wird während des ganzen Versuches auf ein langes Blatt berußten Papieres verzeichnet. Die normale Temperatur ist 38,66. Es werden 100 ccm Collargol in die Saphena eingespritzt, und sofort sinkt die Temperatur bis 38,5; aber nach 10 Minuten beginnt sie wieder zu steigen, um nach 3 Stunden ein Maximum von 41,2 zu erreichen. Nach 5 Stunden ist sie 40,6, nach 7 Stunden 39,8 und nach 17 Stunden noch 39,6. Am folgenden Tage

---

[1]) R. Luzzatto, Intorno al cantegno nell' organismo animale del Collargolo etc. Arch. di Farmacol. e Terap. 14, Februar 1908.

befindet sich der Hund sehr schlecht und nach 24 Stunden stirbt er. Der während des Lebens spontan entleerte Urin ist dunkel und bluthaltig. Die Sektion und die Untersuchung ergeben die gleichen Resultate wie jene des vorhergehenden Versuches.

Der Blutdruck, der nach Einspritzung plötzlich gesunken war, wird bald wieder normal und bleibt so während der ganzen Zeit, innerhalb welcher der Hund aufgebunden ist (Fig. 1).

Versuch 3.

Kaninchen Nr. XIII, 1,950 kg. Collargol zu 0,20 $^0/_{00}$. Normale Temperatur 37°. Nach einer Einspritzung von 25 ccm Collargol sinkt die Temperatur stufenweise in 2 Stunden bis 34,9°. Das Kaninchen überlebt und am folgenden Tag ist die Temperatur 38,68°. Das Sinken der Temperatur ist vielleicht teils die Folge dessen, daß unmittelbar vor der Einspritzung und $^1/_2$ Stunde nach dieser zwei Blutentziehungen von je ca. 10 ccm Blut aus der Carotis gemacht wurden, um seine Koagulabilität und Viscosität zu prüfen. Die Zeit der Koagulation war gleich derjenigen normalen Blutes und so auch die Viscosität des defibrinierten Blutes.

Für das normale Blut . . . . . . $\eta = 4{,}96$
nach der Einspritzung . . . . . . $\eta = 4{,}89$.

Versuch 4.

Kaninchen Nr. XIV, 3,5 kg. Einspritzung von 35 ccm Collargol zu 0,20 $^0/_{00}$ in die Jugularis. Normale Temperatur war 38,46. Nach der Einspritzung sinkt sie bis 37,8 und bleibt für 2 Stunden zwischen 37,8° und 37,9°; nach dieser Zeit beginnt sie zu steigen und erreicht nach 6 Stunden 40,37. Am folgenden Morgen ist sie noch 38,86. Der Harn wird mit dem Katheter entzogen; er enthält kein Blut, aber 2 $^0/_0$ Albumin (Albuminometer von Esbach). Das Kaninchen stirbt nach 3 Tagen.

Versuch 5.

Hund Nr. XV, 14 kg. Einspritzung von 125 ccm Collargol zu 0,20 $^0/_{00}$ in die Saphena. Der Blutdruck in der Carotis wird während des ganzen Versuches aufgezeichnet. Normale Temperatur ist 38,6. Nach der Einspritzung, welche durch vier Pausen in Zeit von 10 Minuten ausgeführt wird, sinkt die Temperatur in $^1/_2$ Stunde bis 38,42°, dann steigt sie wieder, und nach 2 Stunden ist sie 40,4°. 5 Stunden nach der Einspritzung ist sie 39,1. Der Blutdruck bleibt unverändert, die Viscosität des defibrinierten Blutes ist vor und nach der Einspritzung gleich.

Der Hund überlebt. Der am folgenden Tage mit dem Katheter entleerte Urin reagiert alkalisch, ist reich an Phosphaten und enthält 1,5 $^0/_0$ Albumin; in den nächsten 15 Tagen sind Spuren davon noch nachweisbar.

Versuch 6.

Hund Nr. XXI, 7 kg. Einspritzung von 20 ccm Collargol zu 0,25 $^0/_{00}$ in die Saphena. Die Temperatur steigt in 2 Stunden von 38,2° zu 39°. Am andern Tage ist sie wieder bis 38,3° gesunken. Der nach 24 Stunden

abgegebene Urin ist alkalisch, reich an Phosphaten und enthält Spuren von Albumin.

Versuch 7.

Hund Nr. II, 10 kg. Normale Temperatur 38,7°. Es werden in die Saphena 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung eingespritzt. Die von 5 zu 5 Minuten beobachtete Temperatur schwankt während 6 Stunden nach der Einspritzung zwischen 38,6° und 38,4°. Das Tier stirbt nach 48 Stunden, und bei der histologischen Untersuchung wird intensive Nephritis mit starker Trübung des Epithels der Nierenkanälchen, und diese voll von Detritus gefunden. Der nach dem Tode aus der Blase entnommene Urin ist reich an Albumin.

Aus diesen Versuchen können wir schließen:

1. Nach einer intravenösen Einspritzung von 0,25‰ige Collargollösung im Verhältnis von ca. $^1/_{100}$ des Gewichtes des Tieres beobachtet man ein unbedeutendes, vorübergehendes Sinken der Temperatur, auf welches ein Steigen von 2 bis $2^1/_2$° nach Verlauf von 2 bis 3 Stunden erfolgt. Aus unbekannten Gründen macht Versuch 1 eine Ausnahme.

2. Die Viscosität des Blutes verändert sich nicht.

3. Der Druck des Blutes wird nach der Einspritzung plötzlich schwächer, aber nach kurzer Zeit wird er wieder normal.

4. Kleine Mengen Collargol verursachen auch ein Steigen der Temperatur und erzeugen Phosphaturie und leichte Albuminurie.

5. Große Mengen Collargol erzeugen reichliche Phosphaturie und sehr starke Nephritis mit Cylindern und Hämaturie, was in kurzer Zeit zum Tode führt.

6. Eine intravenöse Einspritzung von physiologischer Kochsalzösung, im gleichen Verhältnis wie das Collargol verursacht kein Steigen der Temperatur.

Untersuchungen über das kolloidale elektrische Silber.

Das Kolloid wird nach der Methode Bredigs hergestellt, indem man den Lichtbogen zwischen zwei Silberelektroden unter destilliertem Wasser durchschlagen läßt. Die Kathode zerstäubt in Form von kolloidalen, ultramikroskopischen Körnchen. Schon Bredig hatte beobachtet, daß es möglich ist, mit ein und demselben Metall Lösungen von verschiedenen Farben zu erhalten. Cernovodeanu und Henri[1]) bewiesen,

[1]) Cernovodeanu und Henri, C. R. Soc. Biol. 1906.

daß je nach Stärke des Stromes, der Reinheit des Wassers, der Form und Größe der Elektroden es möglich ist, kolloidale Lösungen, die vom Olivgrünen ins Braunrötliche übergehen, zu erhalten. Die ersteren haben größere und weniger bewegliche, ultramikroskopische Körnchen als die braunen Lösungen, und ihre katalytische Kraft ist geringer als die der letzteren.

Für unsere Versuche benützten wir Lösungen von verschiedener Farbe: vom Olivgrünen bis zum Rotbraunen. Eine der rotbraunen Lösungen wurde uns freundlichst von Herrn V. Henri zur Verfügung gestellt, welchem wir auch hier unsern Dank aussprechen; die andern wurden von uns selbst hergestellt.

Wir werden sehen, wie der Verschiedenheit in der Größe der Körnchen und der katalytischen Kraft zwischen der olivgrünen Lösung und der braunrötlichen auch eine verschiedene physiologische Wirkung entspricht.

Gompel und Henri[1]) bewiesen, daß infolge einer intravenösen Einspritzung von 20 ccm braunrötlichen Silbers von 0,25 °/₀₀ an ein Kaninchen die Temperatur in 2 Stunden um ungefähr 1 Grad steigt. Eine Serie täglicher Einspritzungen von 20 ccm Silber an ein Kaninchen auf intravenösem, subcutanem oder intraperitonealem Weg erzeugt ein starkes Abmagern des Tieres im Verlauf von 20 Tagen. Durch den Mund eingeführt sind auch sehr starke Mengen ungefährlich, in die Adern injiziert, erträgt das Tier gut 10 ccm pro Tag während 8 aufeinanderfolgender Tage.

Um zu untersuchen, wo das eingespritzte Silber sich festsetzt, bedienten sich Henri und Gompel[2]) einer von Urbain angegebenen Methode, welche in der spektrophotographischen Untersuchung des zwischen 2 Kohlen wirkenden Flammenbogens besteht. Auf eine der Kohlen legt man ein wenig Pulver des bei 110° getrockneten Organs. In der ultravioletten Zone des Spektrums hat man die Silberlinie, und die Methode ist so fein, daß sie die Anwesenheit des Metalles nachzuweisen gestattet, selbst wenn es sich im Verhältnis von $^1/_{100\,000}$ des Gewichtes des trockenen Pulvers des Organs befindet.

Mayer und Stodel[3]) spritzten in die Adern eines Hundes

[1]) Gompel u. Henri, C. R. Soc. Biol. **1906**, 362.
[2]) Gompel u. Henri, C. R. Soc. Biol. **1906**, 388 u. 488.
[3]) Mayer u. Stodel, C. R. Soc. Biol. **1905**, 712.

150 bis 200 ccm kolloidales Silber (chemisch präpariert) und fanden es wieder in Form von kleinen, schwarzen Körnchen in den Zellen der gewundenen Kanälchen der Nieren, in den Leukocyten und in den Zellen der aufsteigenden Kanäle der Ansa von Henle, während die Glomeruli der Nieren frei davon waren. Nach 48 Stunden waren die Körnchen aus den Zellen, wo sie sich festgesetzt hatten, verschwunden. Das Festlegen dieser Körnchen ist die Wirkung aktiver cellulärer Ausscheidung; denn, wenn man eine künstliche Zirkulation des kolloidalen Silbers in einer toten Niere vornimmt, kommen keine Körnchen in die Zellen.

Wir berichten jetzt über unsere Versuche:

Versuch 1.

Hund Nr. XVIII, 7 kg. Es werden in die Saphena 100 ccm kolloidale Silberlösung von olivgrüner Farbe eingespritzt. Die Lösuug enthält 0,09 $^0/_{00}$. Die normale Temperatur war 37,98^0. Sogleich nach der Einspritzung sinkt sie bis 37,5^0, um in 4 Stunden stufenweise bis 40,76^0 zu steigen. Nach 5 Stunden sinkt sie wieder bis 40,50^0, am folgenden Tage ist sie noch 39,7^0 und am zweiten Tage noch 38,98^0. Der nach 24 Stunden aus der Blase entnommene Urin ist trüb, dunkel und alkalisch. Er enthält viel Phosphat und 1 $^0/_{00}$ Albumin (Esbach). Die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes ergibt körnige und hyaline Cylinder. 3 Tage nach der Einspritzung sind im Urin noch Spuren von Albumin zu finden.

Versuch 2.

Hund Nr. XIX, 8,250 kg. Es werden in die Saphena 100 ccm rötlichgrünes, stabilisiertes und isotonisches Silber eingespritzt und am folgenden Tag noch weitere 100 ccm in die andere Saphena. 6 Stunden nach der zweiten Einspritzung ist der Urin alkalisch, trüb, enthält viel Phosphate und Spuren von Albumin (weniger als beim vorhergehenden Versuch). Die Konzentration der Lösung war 0,05 $^0/_{00}$.

Versuch 3.

Hund Nr. I, 10 kg. Normale Temperatur 39,07^0. Es werden in die Saphena in 5 Min. 100 ccm rötlichbraunes Silber eingespritzt (Henri). Die Temperatur sinkt in $^1/_4$ Stunde bis 38,6^0, dann bewegt sich das Tier heftig, aus Mund und Nase tritt reichlich schaumige Flüssigkeit, und das Tier stirbt.

Bei der Sektion ist das Herz geschwollen, die Notkammern und die Kammern sind voll dunkelbraunen, sehr dicken, beinahe fadigen Blutes. Die Gefäße des Mesenteriums und des Abdomens haben die braune Farbe des Blutes, das sie enthalten, und dieselbe Farbe haben alle Organe.

Die Lungen werden von einem sehr akuten Ödem befallen; sie werden ausgequetscht, und es fließt eine schaumige, blutgefärbte Flüssigkeit heraus. Bei der mikroskopischen Untersuchung wird blutiges Ödem mit Bruch der Lungenalveolen, die sehr ausgedehnt sind, gefunden.

Versuch 4.

Hund Nr. II, 5,600 kg. Normale Temperatur 39°. Es werden in die Saphena in 5 Min. 50 ccm desselben Silbers wie in Versuch 3 eingespritzt. Die Temperatur steigt zu 40,06° in einer Stunde. Das Tier hat dann starke Atemnot, schäumt aus Nase und Mund, die Temperatur beginnt wieder zu sinken, und 1 1/2 Stunden nach der Einspritzung stirbt der Hund. Die anatomische Untersuchung ergibt die gleichen Resultate wie bei Versuch 3. Wir bemerken besonders die starke Viscosität des Blutes, welches, aus dem Herzen entnommen, langsam zu einem weichen und unvollständigen Koagulum gerinnt, und das sehr akute Lungenödem. Fig. 2a zeigt den Gang der Temperatur in diesem Versuche.

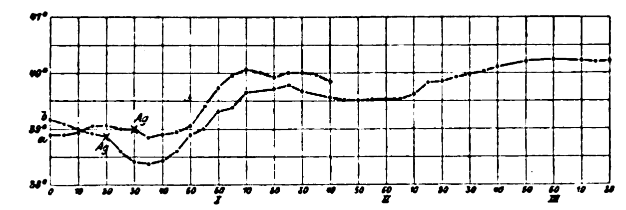


Fig. 2.

Versuch 5.

Hund Nr. V, 4,470 kg. Normale Temperatur 37,8°. Es werden in die Saphena 225 ccm Silber gleich jenem der Versuche 3 und 4 eingespritzt. Die Temperatur hält sich während 1 1/2 Stunden zwischen 37,8° und 38°, dann steigt sie, und nach Verlauf von 5 Stunden erreicht sie ein Maximum von 39,8°, um dann wieder sofort, nachdem der Hund zu trinken bekommen hat, bis 38,8° zu sinken. Sie bleibt auf 38,8° während 1 1/2 Stunden, dann werden weitere 46 ccm desselben Silbers in die Saphena eingespritzt. Die Temperatur bleibt während 1 Stunde zwischen 38,3° und 38,4°. Der Hund wird sodann sehr erregt, hat starke Atemnot, schäumt aus Nase und Mund, und die Sektion ergibt die bekannten Resultate. Fig. 3 zeigt den Gang der Temperatur in diesem Versuch.

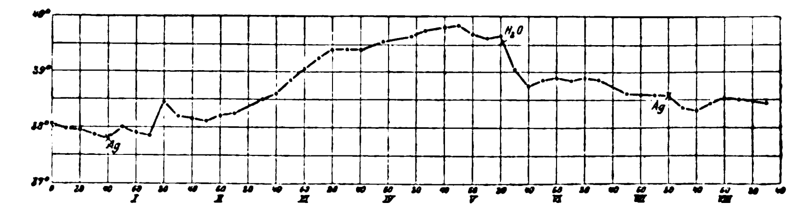


Fig. 3.

Versuch 6.

Hund Nr. VII, 9 kg. Normale Temperatur 38,7°. Es wurden 90 ccm rotbraunes 0,25 $^0/_{00}$ von uns hergestelltes Silber eingespritzt. Die Temperatur schwankt 1 Stunde zwischen 38,1° und 38,4° auf und ab. Danach stirbt der Hund unter den gleichen Symptomen. Die Sektion ergibt die bekannten Resultate.

Versuch 7.

Hund Nr. XVI, 6 kg. Der Blutdruck in der Carotis wird während des ganzen Versuches aufgeschrieben. Normale Temperatur 37,8°. Es werden in die Saphena 100 ccm braunrötliches Silber in 4 Einspritzungen, jede zu 25 ccm, in Abständen von 2 Min. zwischen der 1a und der 2a, von 11 Min. zwischen der 2a und der 3a und von 2 Min. zwischen der 3a und der 4a eingeführt. Die Temperatur bleibt 1 Stunde unverändert, dann zeigen sich die Symptome des Lungenödems, und der Hund stirbt. Die Sektion ergibt die bekannten Resultate. Der Blutdruck, der während der Einspritzungen und bis zum Beginn des Lungenödems unverändert geblieben war, wird von diesem Augenblick an nach und nach schwächer bis zum Tod (Tafel I).

Versuch 8.

Hund von 16 kg Gewicht. Der Blutdruck in der Carotis wird aufgeschrieben. In Abständen von ca. 1 Min. werden 3 Einspritzungen von braunrötlichem Silber gemacht, die eine 30 ccm, die andern je 20 ccm. $2^1/_2$ Min. nach der dritten wird eine vierte von 25 ccm gemacht. Wie beim vorhergehenden Versuch beobachtet man keine Veränderung des Druckes, bis das Lungenödem beginnt. Der Blutdruck wird nach und nach schwächer, bis das Tier stirbt (Fig. 4).

Versuch 9.

Hund Nr. XVII, 10 kg. Es wird ein Muster normalen Blutes aus der Carotis entnommen und defibriniert. Es werden sodann 100 ccm desselben Silbers der Versuche 6 und 7 in die Saphena eingespritzt. Nach 5 Min. wird wieder ein Blutmuster entnommen. Nach 15 Min. zeigen sich die Symptome des Lungenödems, und kaum gelingt es noch, 10 ccm Blut aus der Carotis zu nehmen, dann stirbt der Hund. Das 5 Min. und 15 Min. nach der Einspritzung entnommene Blut fließt langsam, ist sehr viscös und gerinnt nicht zu einem festen Koagulum. Mit dem Viscosimeter von **Ostwald** (den Koeffizienten der Viscosität η nach der Formel $\eta = \frac{ts}{to}$ berechnend, wobei to die Ausflußzeit des destillierten Wassers in Sekunden ausgedrückt, s das spezifische Gewicht des Blutes und t seine Ausflußzeit in Sekunden ausgedrückt ist) fanden wir:

Normales Blut	$\eta =$ 5,29
Nach 5 Min. entnommenes . . .	$\eta =$ 20,83
Nach 15 Min. entnommenes . . .	$\eta =$ 56,08.

Versuch 10.

Hund Nr. III, 10 kg. Normale Temperatur ist 38,5°. In die Saphena werden 75 ccm des gleichen braunrötlichen Silbers der vorhergehenden Versuche eingespritzt. Die Temperatur sinkt in $^1/_2$ Stunde, dann beginnt sie wieder zu steigen, erreicht nach $1^1/_2$ Stunden ein Maximum von 39,6°, und nach einer weiteren halben Stunde sinkt sie wieder bis 38,98°. Der Hund wird losgebunden und überlebt endgültig. Der am folgenden Tage mittels des Katheters entleerte Urin ist leicht alkalisch; enthält viel Phosphate und kein Albumin.

Versuch 11.

Kaninchen Nr. XX, 1970 g. Normale Temperatur 37,3°. Es werden in die Jugularis 25 ccm braunrötliches Silber eingespritzt. Nach 2 Stunden ist die Temperatur auf 39,8° gestiegen. Das Kaninchen überlebt. Der am folgenden Tage durch Drücken der Blase erhaltene Urin ist alkalisch, reich an Phosphaten und enthält kein Albumin.

Versuch 12.

Hund Nr. XXII, 6,540 kg. Während 4 aufeinanderfolgender Tage macht man pro Tag eine Einspritzung von 20 ccm rotbraunem Silber in die Saphena. Jedesmal steigt die Temperatur um ca. 1° in 2 Stunden. Der Urin bleibt während der ganzen Zeit frei von Albumin.

Versuch 13.

Hund Nr. XXVI, 5,60 kg. In die Saphena werden 30 ccm braunrötliches Silber eingespritzt. Der Hund überlebt, und am folgenden Tage enthält sein Urin kein Albumin.

Versuch 14.

Hund (Nr. III, IV, VI, XVII), 10 kg. Normale Temperatur 38,5°. Es werden in die Saphena 75 ccm 0,25‰ braunrotes Silber eingespritzt. Die Temperatur steigt in 2 Stunden bis 39,6°. Der Hund erträgt die Einspritzung gut und wird losgebunden. Am folgenden Tag ist die Temperatur wieder bis 39,1° gesunken. Es werden 100 ccm des gleichen Silbers in die Saphena eingeführt. Diese Menge hätte auf einen Hund von 10 kg Gewicht tödlich gewirkt, wenn er nicht vorher schon andere Einspritzungen erhalten hätte, weil sie $^1/_{100}$ des Gewichtes des Tieres betrug. (Versuch 3, 4, 6, 8.) Bei diesem Versuche jedoch steigt die Temperatur bei 40,2° in 3 Stunden und das Tier überlebt. Fig. 2b zeigt den Gang der Temperatur in diesem Teile des Versuches.

2 Tage nach der ersten Einspritzung ist die Temperatur noch 39,4°. Es werden in die andere Saphena 150 ccm derselben Lösung ($1^1/_2$ mal tödliche Dosis) eingespritzt. Die Temperatur steigt bis 41,1° in $2^1/_2$ Stunden; dann, nach Verlauf von weiteren 3 Stunden, sinkt sie wieder bis 38,8°. Fig. 8 zeigt den Gang der Temperatur in diesem Teil des Versuches. Das Tier überlebt, frißt regelmäßig und hat weiter keine Störung. Der Urin enthält keine Spur von Albumin. 10 Tage nach der ersten Ein-

spritzung werden weitere 100 ccm desselben Silbers eingespritzt. Nach $^1/_2$ Stunde zeigen sich die Symptome des Lungenödems; das Tier stirbt nach kurzer Zeit.

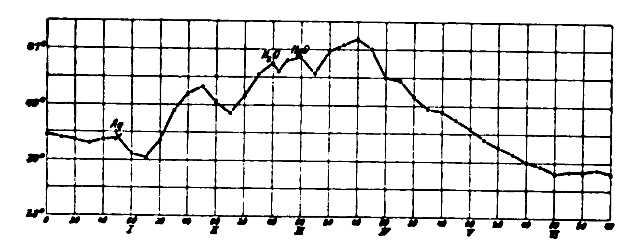


Fig. 5.

Bei der Sektion findet man ein sehr akutes Lungenödem, das Blut des Herzens ist viscös, beinahe fadig, aber es gerinnt nur teilweise und sehr langsam.

Versuch 15.

Hund Nr. XXVI, 5,600 kg. Es werden in die Saphena 30 ccm derselben rotbraunen Silberlösung eingespritzt. Der Hund überlebt und befindet sich wohl. Am folgenden Tage werden weitere 50 ccm in die Saphena eingespritzt und am dritten Tage noch einmal 100 ccm (2 mal tödliche Dosen). Der Hund erträgt die Einspritzungen gut. Am vierten Tage wird keine Einspritzung gemacht, am fünften werden 150 ccm eingespritzt. Die bekannten Resultate bei der Sektion. Der Urin enthält keine Spur von Albumin. Das Koagulum ist am folgenden Tage wegen intensiver Fibrinolyse verschwunden.

Versuch 16.

Hündin von 4,700 kg Gewicht. Es werden 25 ccm braunrötliches Silber in die Saphena eingespritzt. Beinahe sofort läßt der Druck in der Carotis bedeutend nach; nach und nach wird er dann beinahe wieder normal (Tafel II a). Eine zweite Einspritzung von 20 ccm vermindert den Druck durchaus nicht, der noch während ungefähr $^1/_2$ Stunde normal bleibt. Dann stirbt das Tier an Lungenödem.

Versuch 17.

Hund Nr. XXVIII, 4,800 kg. Es werden in die Saphena 25 ccm des bekannten, braunrötlichen Silbers eingespritzt. Am folgenden Tage werden 30 ccm, am dritten Tage 40 ccm (tödlich wirkende Dosis), am vierten Tage 60 ccm, am fünften Tage 80 ccm (doppeltes der tödlich wirkenden Menge) eingespritzt. Der Hund erträgt die 5 Einspritzungen sehr gut, frißt und befindet sich wohl. 5 Stunden nach der letzten Einspritzung wird er zum Zwecke der Blutentziehung getötet, weil probiert werden soll, ob sein Blut imstande ist, einen andern Hund, dem eine tödlich wirkende Menge eingespritzt worden war, zu retten.

Kaum hat er zu atmen aufgehört, so wird die Sektion gemacht. Das Herz schlägt noch und stößt wenig Blut von normalem Fluß, Farbe und Koagulabilität aus. Die Lungen sind normal, die Gefäße sind leer. Die Organe sind infolge der Blutentziehung sehr blutarm, ausgenommen die Milz, welche intensiv braun ist. Die Lungenlymphdrüsen sind schwärzlich (Kohle?), jene des Halses und der Leisten haben normales Aussehen. Der Urin enthält keine Spur Albumin. Ein wenig defibriniertes Blut wird zentrifugiert, und in einem Präparat, das durch Streichen mit der oberen Schicht der Blutkörperchen hergestellt wird, werden die normalen Leukocytenformen bemerkt, und in den Leukocyten sieht man keine Silberkörnchen.

Versuch 18.

Hund Nr. XXIX, 10 kg. In die Saphena werden 250 ccm defibriniertes Blut vom Hunde des Versuches 16 eingespritzt und sogleich darauf 100 ccm Silber (tödlich wirkende Menge). Nach Verlauf $^1/_4$ Stunde beginnt das Tier zu röcheln, und gleich nachher zeigen sich die Symptome des Lungenödems, welches bei der Sektion als sehr akut gefunden wird.

Aus diesen Versuchen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Das kolloidale elektrische Silber mit großen Körnchen (olivgrünes Silber) und jenes mit mittelgroßen (braungrünes) in die Adern eingespritzt verursacht ein Steigen der Temperatur des Tieres und erzeugt Nephritis und Albuminurie, nie Lungenödem.

2. Das kolloidale elektrische Silber mit kleinen Körnchen (braunrötlich) in kleinen, täglichen Mengen (20 ccm für einen Hund von 6 kg Gew.) eingespritzt, wird sehr gut ertragen und erzeugt keine Albuminurie. Jeder Einspritzung entspricht ein Steigen der Temperatur um ca. 1 Grad.

3. Im Verhältnis von $1^0/_0$ des Gewichtes des Tieres eingespritzt, wirkt das kolloidale, braunrötliche Silber tödlich. Der Tod erfolgt in kurzer Zeit, herbeigeführt durch blutiges, akutes Lungenödem. Das Blut wird sehr viscös und koaguliert nur unvollständig. Das vereinzelte Koagulum, das sich bildet, verschwindet rasch, was zu der Annahme führt, daß die intensive Fibrinolyse durch die Tätigkeit der Fermente, welche auch normalerweise Fibrinolyse (Dastre) erzeugen, durch das Silber verursacht worden ist. Diese Erscheinung steht vielleicht im Zusammenhange mit der Beschleunigung der Leberautolyse mit Hilfe der kolloidalen Metalle.[1])

---

[1]) M. Ascoli und G. Izar, Katalytische Beeinflussung der Leberautolyse durch kolloidale Metalle. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 4.

4. Wenn man täglich intravenöse Einspritzungen von braunrötlichem Silber macht und mit kleinen Mengen beginnt, erreicht man in 3 bis 5 Tagen, daß der Hund auch tödlich wirkende Mengen und auch das Doppelte davon ertragen kann. Diese Dosis ruft gar kein Symptom von Unwohlsein hervor, das Tier bleibt leben, aber sein in die Adern eines andern Hundes eingespritztes Blut rettet diesen nicht vor einer tödlich wirkenden Menge, die auf einmal eingespritzt wird.

5. Wenn (Vers. 7 und 8) die tödlich wirkende Menge durch einige Einspritzungen, deren Quantum hinsichtlich des Gewichtes des Tieres, weit unter dem tödlich wirkenden ist, erreicht wird, dann ist gar keine Veränderung im Druck sofort nach jeder einzelnen Einspritzung zu bemerken. Nur nach der letzten, das heißt, wenn sich das Lungenödem einstellt, läßt der Druck stufenweise bis zum Tode nach. Wenn dagegen (Vers. 16) das Quantum der ersten Einspritzung schon verhältnismäßig groß ist im Vergleiche zum Gewicht des Tieres, wenn auch unter der letalen Dosis, so erfolgt ein sofortiges Nachlassen des Druckes, welcher dann langsam wieder normal wird und sich nicht mehr unmittelbar nach einer zweiten Einspritzung, die das tödlich wirkende Quantum erreicht, verändert; aber später, wenn das Lungenödem sich bildet, läßt er stufenweise bis zum Tode nach.

Weiter unten werden wir diese Erscheinungen des Anpassens besprechen.

Untersuchungen über das kolloidale Arsensulfid.

Das kolloidale Arsensulfid wird hergestellt, indem man den Schwefelwasserstoff Blase auf Blase durch eine konzentrierte, in destilliertem Wasser hergestellte Lösung von Arsenigsäureanhydrid streichen läßt. Es ist unbedingt nötig, daß der Schwefelwasserstoff sehr langsam durch die Arsenigsäureanhydridlösung passiere, denn wenn das Durchstreichen zu rasch vor sich geht, fällt das Arsentrisulfid aus, wenigstens teilweise.

Man ließ das Gas so lange durchstreichen, bis 2 Proben der kolloidalen Lösung, in einem Zeitabstand von 10 bis 15 Minuten entnommen, gleich gefärbt waren.

Wie die auf elektrischem Wege hergestellten kolloidalen Silberlösungen können auch die verschiedenen kolloidalen Arsen-

lösungen bei gleicher Konzentration verschiedene Farbentönungen vorweisen: diese wechseln vom Kanariengelben bis zum Orangeroten. Wenn die kolloidale Lösung aufgekocht wird, damit der Überschuß an Schwefelwasserstoff entweicht, nimmt sie eine mehr gelbliche Färbung an, wenn sie aber nicht aufgekocht wird, bleibt die Lösung mehr rötlich. Wie beim Silber steht auch beim Arsensulfid die verschiedene Färbung in Beziehung mit der Größe der ultramikroskopischen Körnchen und vielleicht auch mit ihrer Form; seine physiologische Wirkung ist bei den ungleich gefärbten Lösungen verschieden.

Je röter die kolloidale Arsenlösung ist, desto kleiner sind ihre Körnchen. Die roteste Lösung, die wir herstellten, zeigt unter dem Zeißschen Ultramikroskop einen sehr intensiven orangegelben Lichtkegel, in welchem man keine Körnchen unterscheiden kann. Wenn man diese Lösung langsam mit destilliertem Wasser verdünnt, wird der Lichtkegel nach und nach blasser gelb, dann gräulich und verschwindet, ohne daß man eine Scheidung der Körnchen wahrgenommen hätte; diese müssen daher amikronische Körnchen sein.

Ist die Lösung gelb gefärbt, so sieht man mit dem Ultramikroskop einen gleichfarbigen, nicht homogenen Lichtkegel, weil viele, verschieden große, blaßgelbe Körnchen darin enthalten sind. Durch Verdünnen der Lösung erzielt man eine vollständige optische Scheidung der Körnchen. Die Lösungen, deren Färbung zwischen Gelb und Orange liegt, haben noch sichtbare, aber sehr kleine Körnchen. Durch Verdünnen erreicht man bei diesen Lösungen keine vollständige Scheidung der Körnchen, weil sie auch noch amikronische Körnchen enthalten.

Mit dem gewöhnlichen Mikroskop, auch dem schärfsten, untersucht, erscheinen diese Lösungen alle vollständig homogen.

Keine der kolloidalen Arsenlösungen, die von uns verwendet wurden, diffundiert, weder durch die Kolloidsäckchen, noch durch die Dialysatoren von Pergamentpapier; alle zeigen das Tyndallsche Phänomen.

Das spezifische Leitungsvermögen dieser kolloidalen Lösungen, nach langer Dialyse festgestellt, ist verhältnismäßig groß, vielleicht wegen der darin enthaltenen Spuren Arsenigsäureanhydrid. Das spezifische Leitungsvermögen der gelblichen Art kolloidaler Arsensulfide ist $4{,}19 \,.\, 10^{-4}$, das der rötlicheren $1{,}96 \,.\, 10^{-4}$.

Die katalytische Kraft der beiden Arten kolloidalen Arsentrisulfids ist nicht sehr verschieden.

Arsentrisulfid rot $K = 0,5$
„ gelb $K = 0,3$.

Die Stabilität der kolloidalen Arsenlösungen ist nicht immer gleich; die gelben, großkörnigen Lösungen sind stabiler, die roten Lösungen sind weniger stabil. Auch wenn ein stabiles Kolloid (Gummi) hinzugesetzt wird, präcipitieren letztere Lösungen äußerst leicht, und auch mit einer reichlichen Menge Gummi gelingt es nicht, sie zu stabilisieren, im Gegenteil, wenn das Gummi sehr konzentriert ist, kann es an sich schon das Präcipitieren des Kolloids verursachen.

Im Gegensatz dazu sind die gelben, großkörnigen Lösungen viel stabiler. Es genügt, ihnen ein wenig Gummi beizufügen, um sie so stabil zu machen, daß es weder mit einer Bariumchloridlösung, noch mit Schwefelsäure gelingt, sie zu präcipitieren.

Bevor die kolloidalen Arsenlösungen verwendet wurden, wurden sie zirka einen Monat lang zum Zwecke des Dialysierens in Kolloid- oder Pergamentsäckchen in destilliertes Wasser eingetaucht, um sie von dem in der Lösung zurückgebliebenen Arsenigsäureanhydrid zu reinigen.

Das den Dialysator umgebende destillierte Wasser wurde sehr oft erneuert. Trotz alledem enthielten die Lösungen noch nach einem Monat einen Teil des Arsenigsäureanhydrids. Tatsächlich war es möglich, entweder mittels Filtration durch Kolloidsäckchen in der Art, daß man die intergranuläre Flüssigkeit ausschied, oder daß man durch gewöhnliches Filtrierpapier filtrierte, nach Ausfällung des Kolloids mit einem Bariumsalz Spuren von Arsenigsäureanhydrid nachzuweisen, indem man Schwefelwasserstoff darüber leitet, wobei sich Trisulfid bildete, oder indem man das Arsen mit dem Marschschen Apparat nachwies.

Die Lösungen wurden auch von dem Überschuß des H_2S entweder durch einen Luftstrom oder Aufkochen befreit, jedoch viele Tage nachher entweicht noch immer dieses Gas (schwarze Färbung des mit essigsaurem Blei getränkten Papieres), und es gelingt nie, die Lösung ganz davon zu befreien. Andererseits ist es nicht möglich, auch nicht

durch langes Durchleiten des H_2S, alles Arsenigsäureanhydrid in Trisulfid zu verwandeln, und wir erwähnten schon, daß es nicht gelang, die Lösung von der Arsenigsäure, auch nicht durch eine fortgesetzte Dialyse zu reinigen, was uns das Bestehen eines Gleichgewichts zwischen den drei Substanzen: Arsentrisulfid, Arsenigsäureanhydrid, Schwefelwasserstoff nach folgender Formel wahrscheinlich macht:

$$As_2O_3 + 3H_2S \rightleftarrows As_2S_3 + 3H_2O$$ [1]);

also wäre in dem kolloidalen Arsensulfid sowohl Arsenigsäureanhydrid als auch Schwefelwasserstoff immer noch vorhanden. Es ist alsdann klar, daß wenn man durch die Luft einen Teil des Schwefelwasserstoffs hinwegnimmt, das Gleichgewicht sich nach links hin verschiebt, und man muß neues Trisulfid zerlegen, indem man neues H_2S und neues Arsenigsäureanhydrid herstellt. Es können sich in der Lösung also H_2S und As_2O_3 befinden, ohne aufeinander zu reagieren und ob wir das H_2S vermittels eines Luftstromes entfernen oder ob wir durch Kolloid filtrierend und vermittels der Dialyse das As_2O_3 entfernen, so werden wir es nie erreichen, die kolloidale Arsentrisulfidlösung von diesen Substanzen zu befreien. In unseren Versuchen über die physiologische Wirkung des kolloidalen Arsens haben wir dem Rechnung getragen, daß sich in der Lösung freies Arsenigsäureanhydrid befindet, und in jeder Lösung wurde sie vor deren Anwendung ihrer Menge nach bestimmt.

Wir ließen hingegen die Spuren von Schwefelwasserstoff, die etwa noch in der Lösung gewesen sein konnten, außer acht.

Das freie Arsenigsäureanhydrid vermittels der Methode des Filtrierens durch Kolloid zu bestimmen, ist nicht möglich, weil sich im Verhältnis, in dem die intergranuläre Flüssigkeit ver-

---

[1]) Diese Formel hat nur einen vorläufigen Wert. Es ist möglich, daß das Gleichgewicht viel komplizierter ist und daß sich im Gegenteil verschiedene Gleichgewichte bilden, weil wir nicht wissen, ob in der Lösung wirklich nur Arsenigsäureanhydrid zurückbleibt oder ob sich Verbindungen von Schwefelarsen oder Metarsensäure bilden. Wir behalten uns vor, auf dieses Argument zurückzukommen, welches so viel Licht in die Konstitution der kolloidalen Lösungen und in das Gleichgewicht, das sich zwischen Körnchen und intergranulärer Flüssigkeit bildet, bringen könnte.

schwindet, neue bilden würde; wenn man aber hingegen das Trisulfid des kolloidalen Arsens ausfällt, indem man es in unlöslichen Zustand übergehen läßt, dann wird das Gleichgewicht wahrscheinlich mit einem Schlage zerstört und in der Lösung bleibt wahrscheinlich jene Menge Arsenigsäureanhydrid, die im Augenblick des Präcipitierens vorhanden war, so daß sie, während sie vordem nicht auf H_2S reagieren konnte, jetzt von diesem Gas in Form von Trisulfid präcipitiert werden kann.

Um das in einem gegebenen Volumen der Lösung enthaltene Arsenigsäureanhydrid zu bestimmen, wurde das Trisulfid mit einigen Tropfen verdünnten HCl präcipitiert. Der Niederschlag wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt, mit destilliertem Wasser gewaschen und dann trocken gewogen.

Das durchsichtige, gefärbte Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff behandelt, und das sich bildende Trisulfid, welches dem in der Lösung enthaltenen Arsenigsäureanhydrid entsprach,[1]) auf einem Filter gewogen.

Wie bei den anderen kolloidalen Metallen, haben wir zuerst festgestellt, welches die tödliche Dosis der verschiedenen kolloidalen Arsenlösungen sowohl bei der akuten als auch chronischen Vergiftung ist, dann, welche Wirkung sie auf die Temperatur, auf den Blutdruck und auf das Gewicht des Tieres haben.

Zuletzt haben wir noch untersucht, ob die Tiere fähig sind, sich an das kolloidale Arsensulfid zu gewöhnen.

Akute Vergiftung.

Es ist bekannt, daß, je leichter die Arsenderivate sich lösen, desto stärker giftig sie sind. Zum Beispiel: arsenigsaures

---

[1]) Diese Bestimmung kann nicht als genau angesehen werden, man müßte denn annehmen, daß mit dem plötzlichen Ausfallen des Arsensulfids in Gegenwart einer Säure das Gleichgewicht zwischen Kolloid, Arsenigsäureanhydrid und Schwefelwasserstoff nicht verschoben wird, sondern vielmehr plötzlich gestört wird. Also blieben in der Lösung nur Arsenigsäureanhydrid und Schwefelwasserstoff, welche nicht aufeinander reagieren würden wegen der geringen Konzentration des letzteren. Diese Hypothese haben wir bis zum Beweis vom Gegenteil als exakt angenommen, auch weil der Irrtum keinen großen Einfluß auf das Bestimmen der pharmakologischen Wirkung hätte, wenn immerhin das Wägen der geringen Menge Arsenigsäureanhydrid nicht ganz genau wäre,

Kali ist löslicher und auch viel giftiger als Arsenigsäureanhydrid.

Nach Ronyer[1]) wirken 0,0006 g (pro kg) Arsenigsäureanhydrid, in die Venen eines Hundes eingespritzt, vergiftend; bei einer Dose von 0,0025 g (pro kg) zeigen sich ernste Symptome von Vergiftung, und oft tritt der Tod in 24 bis 36 Stunden ein; sicher erfolgt der Tod, wenn 0,003 g pro kg eingespritzt werden.

Führt man die Dosen in den Magen ein, dann sind 0,06 g bis 0,07 g pro Kilogramm nötig, um den Tod herbeizuführen. Das reine Arsensulfid (Bisulfid, Trisulfid) ist fast oder ganz unlöslich, ist nicht giftig und kann den Tieren in großen Mengen verabreicht werden.

Hillefeld[2]) hat beobachtet, daß ein Kaninchen ohne Störung 10 g gefälltes Arsentrisulfid ertrug. Unsere Versuche ergaben, daß das kolloidale Arsentrisulfid den Tod eines Hundes verursachte, wenn eine Dosis von 0,009 g pro Kilogramm in die Venen eingeführt wird. Im kolloidalen Zustand wirkt daher das Arsentrisulfid beinahe ebenso giftig, wie die anderen löslichen Arsensalze.

Die Versuche wurden alle an Hunden gemacht; wir verwendeten dazu dreierlei Lösungen, die wir der Kürze wegen Lösungen a, b, c nennen werden.

Die Lösung a ist jene, welche mehr ins Rötliche übergeht (amikronische Körnchen). Sie wurde hergestellt aus 2 l einer konzentrierten Arsenigsäureanhydridlösung, durch welche man 48 Stunden lang Schwefelwasserstoff Blase auf Blase hindurchstreichen ließ. Nachdem man ein wenig Gummi hinzugesetzt hatte, wurde der Überschuß des Schwefelwasserstoffs mittels eines Luftstromes, der während 4 Tagen durch die Lösung strich, entfernt. Dann wurde die Lösung in einen langen, zylinderförmigen Sack aus Pergamentpapier gefüllt und 25 Tage lang der Dialyse ausgesetzt. Diese Lösung enthält 0,00551 g As_2S_3 und 0,00021 g As_2O_3 pro Kubikzentimeter.

Die Lösung b hat äußerst kleine, submichronische, gelblichere Körnchen.

---

[1]) Ronyer, Essai sur les doses toxiques et les contrepoisons des composés arsénicaux. Thèse de Nancy, 1876.

[2]) Hillefeld zitiert nach Richet, Dictionnaire de Physiologie.

Die Arsenigsäureanhydridlösung, welche zum Kolloid b verwendet wurde, enthält 0,0019 g As_2S_3, entsprechend 0,00235 g As_2O_3. Die in der kolloidalen Lösung zurückgebliebenen Spuren Arsenigsäureanhydrid wurden nicht bestimmt.

Die Lösung c wurde wie die Lösung a hergestellt, aber aus ihr wurde der überschüssige Schwefelwasserstoff durch Aufkochen entfernt. Diese Lösung ist citrongelb und enthält 0,000555 g As_2S_3 und 0,000407 g As_2O_3 pro Kubikzentimeter. Da aber diese Lösung sehr stabil ist, hätte man das Präcipitieren des Trisulfids nicht zustande gebracht, wenn man nicht den trockenen Rückstand der kolloidalen Lösung mit konzentrierter Schwefelsäurelösung behandelt hätte, und es ist wahrscheinlich, daß auf diese Weise ein Teil des Trisulfids durch Bildung von Arsenigsäure zersetzt wurde.

Versuch 1.

18. IV. 1907. Einem Hunde von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 100 ccm der kolloidalen Arsenlösung a eingespritzt, also 0,051 g As_2S_3 und 0,021 g As_2O_3 pro Kilogramm.

Kaum ist die Einspritzung gemacht, so befindet sich der Hund in schlechtestem Zustande; er bleibt zusammengekauert, atmet sehr schwach; der Herzschlag ist kaum wahrnehmbar.

Nach einigen Minuten erholt er sich wieder.

Nach 1 1/2 Stunden erbricht er schaumigen, mit Blut untermischten Mageninhalt.

Nach 6 Stunden ist er tot.

Die Sektion ergibt hyperämische und ödemische Lungen.

Das Herz ist ausgedehnt, rechte Herzkammer und Aorta sind voll flüssigen Blutes; kein Coagulum.

Blut ist dick und schwärzlich.

Versuch 2.

18. IV. 1907. Einem Hund von 5700 g Gewicht werden in die Saphena 30 ccm der kolloidalen Arsenlösung a eingespritzt, d. h. 0,029 g As_2S_3 und 0,0011 g As_2O_3 pro Kilogramm.

Nach 1 Stunde verendet der Hund und die Sektion wird sofort gemacht. Die Organe sind hyperämisch; Blut ist flüssig, viscös, koaguliert langsam und teilweise und ist venös asphyktisch. Die Lungen sind ödematisch, haben hämorrhagische Flecken und hypostatische Zonen.

Versuch 3.

19. IV. 1907. Einem Hund von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 25 ccm kolloidalen Arsens, Lösung a, eingespritzt, d. h. 0,01377 g As_2S_3 und 0,00059 g As_2O_3.

Nach 10 Minuten muß sich der Hund lebhaft erbrechen, hat oberflächliche Atemnot und verendet in der Nacht. Bei der Sektion findet man Lungenödem und flüssiges, viscöses Blut. Der aus der Blase entnommene Urin enthält Spermatozoen, wenige hyaline Zylinder und Albuminspuren.

Versuch 4.

27. IV. 1907. Einem Hund von 17,6 kg Gewicht werden in die Saphena 30 ccm kolloidalen Arsens, Lösung a, eingespritzt, d. h. 0,0093 g As_2S_3 und 0,00035 g As_2O_3 pro Kilogramm.

In diesem Versuche wird der Blutdruck in der Carotis aufgezeichnet. Kaum ist die Lösung eingespritzt, als der Blutdruck bedeutend nachläßt während ungefähr $^1/_2$ Stunde. Sodann steigt er wieder ein wenig, aber als Lungenödem einsetzt, sinkt er wieder (Taf. 2b). Der Hund verendet nach $1^1/_2$ Stunden. Sektion: Akutes, intensives Lungenödem. Blut dick venös, kein Coagulum.

Der aus der Blase entnommene Urin zeigt unter dem Mikroskop zahlreiche gelbe, nadelförmige Kristalle.

Versuch 5.

22. IV. 1907. Einem Hund von 6,5 kg Gewicht werden in die Saphena 8 ccm kolloidalen Arsens, Lösung a, eingespritzt, d. h. 0,00678 g As_2S_3 und 0,00025 g As_2O_3 pro Kilogramm. Der Hund verspürt nichts von der Einspritzung. Der am folgenden Tage aufgefangene Urin ist klar, sehr alkalisch und enthält Albuminspuren.

Demselben Hund wird am folgenden Tage eine weitere Einspritzung von 16,5 ccm kolloidalen Arsens in die Saphena gemacht = 0,01397 g As_2S_2 und 0,00053 g As_2O_3 pro Kilogramm.

Nach 12 Stunden ist er tot. Die Sektion ergibt dieselben Resultate mit Lungenödem. Bei der histologischen Untersuchung werden Anhäufungen amorphen, gelben Detritus in den Gefäßen der Leber und der Milz gefunden. Die Nieren sind normal.

Aus diesen und anderen Versuchen, die wir der Kürze wegen hier nicht wiedergeben, geht hervor, daß 8 mg kolloidalen Arsentrisulfids pro Kilogramm des Tiergewichtes, in die Venen eingespritzt, nötig sind, um das Tier zu töten.

Die Todesursache bei der akuten Vergiftung durch kolloidales Arsentrisulfid mit amikronischen Körnchen ist akutes Lungenödem.

Die Nieren werden nicht immer davon angegriffen, wenn aber ja, dann macht sich leichte Albuminurie bemerkbar.

Beim Arsentrisulfid mit gröbern Körnchen ist die tödlich wirkende Dose für die Lösungen b und c bei beinahe gleich und schwankt zwischen 8 und 9 mg pro Kilogramm des Tieres, aber das Zustandekommen des Todes ist verschieden.

Hier einige Versuche:

Versuch 6.

14. V. 1907. Einem Hund von 11 kg Gewicht werden in die Saphena 20 ccm der Lösung b eingespritzt = 0,00427 g As_2S_3 pro Kilogramm.

Am Hund macht sich keine Vergiftungserscheinung bemerkbar; er muß sich weder erbrechen, noch hat er Diarrhöe. Der am folgenden Tage während der natürlichen Entleerung aufgefangene Urin ist normal, im Sediment werden nur Spermatozoen gefunden.

Am folgenden Tag wird eine weitere Einspritzung in die Saphena gemacht. Diesmal werden 40 ccm derselben Lösung eingespritzt = 0,00854 g As_2S_3. Der Hund brach nicht. 24 Stunden nachher wird während der Entleerung Urin aufgefangen; es sind viele Spermatozoen, Kristalle und gelbe Körnchen und einige wenige Zylinder darin. Am dritten Tag werden 60 ccm der Lösung eingespritzt = 0,01365 g As_2S_3 pro Kilogramm. Nach wenigen Stunden erbricht der Hund schaumige, gelbe Flüssigkeit und hat Diarrhöe. Nachts verendet er. Die Sektion ergibt: Normale Lungen, flüssiges Blut, intensive hämorrhagische Entzündung des Dünndarms, nephritische Nieren mit Blutung in der corticalen Zone. Es wird nochmals mikroskopisch untersucht und es werden deutlich hämorrhagische Nephritis mit intensiver, fettiger Degeneration der Zellen der Kanälchen und viele gelbe Arsensulfidkristalle in den Zellen unterschieden. Die histologische Untersuchung der in Zenkersche Flüssigkeit fixierten Nieren bestätigt die fettkörnige Degeneration der Zellen der Nierenkanälchen.

Man bemerkt außerdem intensive Kernpigmentierung und weite hämorrhagische Zonen um die Glomeruli, die inneren Zonen der Kanälchen sind von der Hämorrhagie zerstört. Der aus der Blase entnommene Urin ist kaffeebraun, beim Erwärmen koaguliert er. Nachdem er filtriert worden ist, ist er orangegelb; mit Guajac-Harz entsteht intensive, blaue Reaktion; unter dem Spektroskop zeigt er die charakteristischen Absorbierungslinien des Hämoglobins. Der Harn zersetzt Wasserstoffsuperoxyd, was dem darin enthaltenen Blute zuzuschreiben ist. Das zentrifugierte Sediment enthält viele Spermatozoen, zahlreiche gelbe, nadelförmige Kristalle und ebenfalls gelbe Körnchen und Schüppchen; Zylinder sind nur wenige darin.

Versuch 7.

16. V. 1907. Einem Hund von 14 kg Gewicht werden in die Saphena 81 ccm kolloidalen Arsens, Lösung b, eingespritzt = 0,01359 g As_2S_3 pro Kilogramm.

Am folgenden Tag verendet der Hund. Die Sektion ergibt: Blut flüssig, normale Lungen, Dünndarm normal, intensive Hämorrhagie im Kolon. Der aus der Blase entnommene Urin ist trübe und dunkel; filtriert entsteht durch Erhitzen ein festes Coagulum, welches sauer ist und kein Hämoglobin enthält. Im Sediment sind Spermatozoen, Kristalle und gelbe Körnchen und einige körnige Zylinder.

Versuch 8.

1. V. 1907. Einem Hund von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 100 ccm kolloidalen Arsens, Lösung c = 0,00555 g As_2S_3 und 0,00407 g As_2O_3 pro Kilogramm eingespritzt.

Gleich darauf muß sich der Hund erbrechen, dann verendet er nach wenigen Stunden. Sektion: Normale Lungen, das kontrahierte Herz enthält kleine, nicht zusammenhängende Coagula. Das Gedärme ist leicht hämorrhagisch. Urin kann man keinen aus der Blase entnehmen.

Versuch 9.

1. V. 1907 Einem Hund von 15 kg Gewicht werden 49 ccm der kolloidalen Arsenlösung c eingespritzt = 0,001596 g As_2S_3 und 0,001339 g As_2O_3 pro Kilogramm.

Der Hund hat Erbrechen, zeigt schwere Vergiftungsymptome, stirbt aber nicht; im Urin wird wenig Albumin gefunden.

Demselben Hund werden 2 Tage darauf 100 ccm derselben Lösung = 0,0029 g As_2S_3 und 0,0027 g As_2O_3 pro Kilogramm eingespritzt.

Der Hund muß sich heftig erbrechen und nach 4 Stunden ist er tot. Die Sektion ergibt: Lungen normal, Herz voll kleiner nicht zusammenhängender Coagula. Der aus der Blase entnommene Urin ist sehr übelriechend und enthält eine große Menge Albumin (1,5 ‰ nach dem Esbachschen Albuminimeter) und körnige Zylinder. Bei der histologischen Untersuchung findet man in der Leber und Milz Niederschläge amorpher, gelber Körnchen.

Es ist wichtig, festzuhalten daß in keinem dieser Versuche, die mit der kolloidalen, großkörnigen Arsenlösung gemacht wurden, der Tod durch akutes Lungenödem herbeigeführt wurde, sondern durch akute, sehr intensive Nephritis und hämorrhagische Enteritis.

Ähnliches wurde beim kolloidalen, elektrischen Silber beobachtet. Die rotbraune Lösung mit sehr kleinen Körnchen verursachte akutes Lungenödem und führte dadurch den Tod herbei, Nephritis wurde nie hervorgerufen. Die olivgrüne Lösung aber mit großen Körnchen tötet das Tier durch Nephritis, nicht durch Lungenödem.

Das kolloidale Arsen hat anscheinend keinen Einfluß auf die Temperatur, wie die folgenden Versuche zeigen.

Versuch 10.

Einem Hund von 5,7 kg Gewicht werden in die Saphena 30 ccm der kolloidalen Arsenlösung a eingespritzt. Diese Menge entspricht 0,03077 g As_2S_3 pro Kilogramm.

Jeweils nach 5 Minuten wird die Temperatur gemessen. Die normale Temperatur ist vor der Einspritzung 39,56°; kaum ist die Ein-

spritzung gemacht, so sinkt die Temperatur bis 39,32°; dann steigt sie wieder bis 39,80°. So bleibt sie bis der Tod 1 1/2 Stunden nach der Einspritzung eintritt.

Versuch 11.

Einem Hund von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 25 ccm der kolloidalen Arsenlösung a eingespritzt, d. h. 0,01462 g As_2S_3 pro Kilogramm.

Jeweils nach 5 Minuten wird die Temperatur gemessen.

Normale	Temperatur	vor der Einspritzung		38,58°
"	"	nach	10 Min.	38,88°
"	"	"	20 "	39,98°
"	"	"	30 "	39,80°
"	"	"	40 "	39,24°
"	"	" 1 Stunde	25 "	38,84°
"	"	" 3 Stunden	00 "	39,18°
"	"	" 4 "	30 "	38,55°

Versuch 12.

7. V. 1907. Einem Hunde von 5,5 kg werden in die Saphena 6 ccm der kolloidalen Arsenlösung eingespritzt, d. h. 0,00637 g As_2S_3.

Temperatur	vor der Einspritzung				38.9°
"	10 Minuten	nach	der	Einspritzung	39,2°
"	20 "	"	"	"	39,2°
"	1 Stunde	"	"	"	38,9°
"	2 Stunden	"	"	"	38,95°
"	5 "	"	"	"	39.5°

Die Einspritzung kolloidalen Arsens verursacht konstant ein Sinken des Blutdruckes, das Sinken hält aber nicht bis zum Tode an, sondern isr nur vorübergehend.

Es ist bekannt, daß alle löslichen Arsensalze eine ersichtliche Wirkung auf das Herz und auf den Blutkreislauf haben.

Boehm und Unterberger[1]) haben bei den Säugetieren wahrgenommen, daß einige Minuten nach einer Arsenigsäureeinspritzung ein andauerndes Sinken des Blutdruckes in den Arterien eintritt, ohne daß ein Steigen vorausgegangen wäre. Im Versuch 4, der schon beschrieben wurde, beginnt das Sinken sofort, nachdem die Einspritzung gemacht worden ist. Nach 1/2 Stunde ist der Druck am niedrigsten, darauf steigt er wieder ein wenig, dann sinkt er aber wieder anhaltend bis zum Tode.

Macht man einem Hunde zwei Einspritzungen kolloidalen Arsens und macht die zweite 1 Stunde nach der ersten, beobachtet man, daß nur die erste den Blutdruck beeinflußt, und zwar erfolgt ein Sinken; die zweite Einspritzung bleibt ohne Wirkung.

---

[1]) Zitiert nach Richet, Dictionnaire de Physiologie 1, 688.

Versuch 13.

7. V. 1907. Einem Hund von 15 kg Gewicht werden in die Saphena 20 ccm kolloidalen Arsens, Lösung a eingespritzt, d. h. 0,00734 g As_2S_3 und 0,00028 g As_2O_3 pro kg.

Die Blutdruckskurve wird auf einen großen Zylinder geschrieben. Kaum ist die Einspritzung gemacht, sinkt die Temperatur bedeutend, nach und nach steigt sie wieder, und nach 1 Stunde ist sie fast wieder normal geworden. Darauf wird eine weitere Einspritzung von 20 ccm kolloidalen Arsens gemacht; diese beeinflußt den Blutdruck in den Arterien gar nicht. In der Nacht verendet der Hund. Die Sektion ergibt kein Lungenödem. Dieser Versuch macht also von allen den Versuchen, die mit der kolloidalen Arsentrisulfidlösung gemacht wurden, eine Ausnahme.

Diese Tatsache ist wichtig, weil sie vielleicht im Zusammenhang steht mit dem ausgebliebenen Sinken des Blutdruckes. Wir werden sehen, daß auch bei der chronischen Vergiftung durch kolloidales Arsen man nie Lungenödem vorfindet, wenn man demselben Tier verschiedene Arseneinspritzungen macht.

Chronische Vergiftung.

Bei der chronischen Vergiftung durch kolloidales Arsentrisulfid wird kein neues Symptom beobachtet. Es zeigen sich dieselben Symptome wie bei der akuten Vergiftung, nur sind sie weniger intensiv und andauernder.

Versuch 14.

24. IV. 1907. Einem Hund von 15,800 kg Gewicht werden in die Venen 5 ccm der kolloidalen Arsentrisulfidlösung (0,00184 g As_2S_3 pro kg) eingespritzt. Der Hund erträgt die Einspritzung sehr gut.

25. IV. 1907. Demselben Hund werden in die Venen 6 ccm derselben Lösung (0,0022 g As_2S_3 pro kg) eingespritzt. Man bemerkt keine Vergiftungserscheinungen; der Urin ist normal.

26. IV. 1907. Weitere Einspritzung in die Venen, diesmal 7 ccm derselben Lösung (0,00252 g As_2S_3 pro kg). Der Hund wiegt 16,200 kg. Er frißt, und es zeigen sich keine Symptome von Vergiftung. Der Urin ist normal.

27. IV. 1907. Weitere intravenöse Einspritzung von 8 ccm derselben Lösung (0,00288 g As_2S_3 pro kg). Der Hund wiegt 16,200 kg, befindet sich wohl, hat keine Diarrhöe und muß sich auch nicht erbrechen.

28. IV. 1907. Einspritzung von 9 ccm derselben Lösung (0,00376 g As_2S_3 pro kg) in die Venen.

1. V. 1907. Einspritzung von 10 ccm derselben Lösung (0,00389 g As_2S_3 pro kg) in die Venen. Der Hund wiegt 15 kg. Er verliert den Appetit und hat Diarrhöe. Im Urin ist Albumin.

2. V. 1907. Intravenöse Einspritzung von 13 ccm derselben Lösung. Die gastroenteritischen Störungen dauern fort, der Hund magert ab, ist traurig und melancholisch (0,00506 g As_2S_3 pro kg).

4. V. 1907. Einspritzung von 20 ccm derselben Lösung (0,00779 g As_2S_3). Der Hund hat viel Gewicht verloren und hat keine Freßlust mehr.

6. V. 1907. Es wird keine Einspritzung gemacht. Der Hund hat seit 2 Tagen nichts gefressen und hat keine Diarrhöe. Der Urin ist trübe, sauer, übelriechend und sehr gefärbt. Er filtriert nur sehr schwer und enthält Albuminspuren. Das Sediment des Urins besteht aus vielen gelben Körnchen, vielen Spermatozoen und einigen körnigen Zylindern.

8. V. 1907. Der Hund ist sehr unwohl, kaum kann er sich aufrecht halten, er frißt und trinkt nicht und ist betäubt. Er wird geschlachtet, und die Sektion wird sogleich gemacht. Die Lungen sind gesund, der Urin enthält nur Albuminspuren, vielleicht wegen der darin enthaltenen Spermatozoen. Zylinder sind keine darin. Hämorrhagische Enteritis.

Versuch 15.

28. V. 1907. Hund von 5,1 kg Gewicht. Es wird in die Vene $^1/_2$ ccm der kolloidalen Arsentrisulfidlösung (Sorte a) eingespritzt; d. h. (0,0005 g As_2S_3 und 0,00002 g As_2O_3 pro kg).

29. V. 1907. Der Hund befindet sich wohl und wiegt 5,1 kg. Einspritzung von 1 ccm derselben kolloidalen Lösung (0,0011 g As_2S_3 und 0,00004 g As_2O_3 pro kg).

30. V. 1907. Kein Vergiftungssymptom, der Hund wiegt 5,1 kg. Einspritzung von 1 ccm derselben Lösung in die Venen (0,0015 g As_2S_3 und 0,00006 g As_2O_3 pro kg).

31. V. 1907. Der Hund befindet sich wohl, die Urine sind normal, das Gewicht ist nicht verändert. Es werden 2 ccm kolloidalen Arsens (0,0022 g As_2S_3 und 0,00008 g As_2O_3 pro kg) eingespritzt.

1. VI. 1907. Gewicht des Tieres 5,2 kg. Einspritzung von $2^1/_2$ ccm derselben Lösung (0,0027 g As_2S_3 und 0,0001 g As_2O_3 pro kg).

3. VI. 1907. Gewicht des Hundes 5 kg, Urin ist normal. Einspritzung von 3 ccm kolloidalen Arsens (0,0033 g As_2S_3 und 0,00012 g As_2O_3 pro kg).

4. VI. 1907. Gewicht ist unverändert, die Urine sind normal, Einspritzung von 4 ccm kolloidalen Arsens (0,0014 g As_2S_3 und 0,00016 g As_2O_3 pro kg).

6. VI. 1907. Der Hund nimmt ab an Gewicht, er wiegt noch 4,700 kg, verliert die Freßlust, die Urine sind normal, er hat Diarrhöe. Einspritzung von 5 ccm kolloidalen Arsens (0,00586 g As_2S_3 und 0,00022 g As_2O_3 pro kg).

7. VI. 1907. Der Hund magert ab, will nicht mehr fressen und ist melancholisch. Er wiegt nur noch 4,600 kg, hat hämorrhagische Diarrhöe. Es wird eine Einspritzung von 6 ccm kolloidalen Arsens in die Venen gemacht (0,0071 g As_2S_3 und 0,00027 g As_2O_3 pro kg).

8. VI. 1907. Der Hund ist sehr unwohl, sein Gang ist wackelig, er ist kachektisch, und um 3 Uhr stirbt er. Die Sektion wird sofort gemacht.

Die Lungen sind normal, die Nieren anscheinend gesund, der aus der Blase entnommene Urin enthält weder Eiweiß noch Zucker. Starke hämorrhagische Enteritis mit Geschwüren im Dünndarm.

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, daß das Tier sich nicht an das Arsen gewöhnen kann und kachektisch wird. Sodann stirbt es an Dosen, die die tödlich wirkende nicht erreichen, infolge von Darmverletzungen.

Das koll. Arsentrisulfid unter die Haut eingespritzt.

Die Wirkung des roten, kolloidalen Arsentrisulfids ist, wenn es unter die Haut eingespritzt wird, von jener der gelben Lösung sehr verschieden.

Die erstere Lösung erzeugt intensive Nekrosen der Gewebe, die letztere nur kleine Knötchen.

Versuch 16.

24. V. 1907. Einem Hund von 14 kg Gewicht werden täglich unter die Haut des Unterleibes Einspritzungen von je 1 ccm kolloidalen Arsens gemacht, und zwar werden abwechselnd die rote Lösung *a* und die gelbe Lösung *d* eingespritzt.

3 Tage nach der ersten Einspritzung kolloidaler, roter Arsenlösung, bemerkt man an der Stelle, an welcher die Einspritzungen gemacht wurden, eine einige Centimeter große nekrotische Area und zerfressene Gewebe in der Umgebung.

Die rote, kolloidale Arsenlösung wurde darauf zu $^1/_2$ und $^1/_4$ verdünnt und dann mit der verdünnten Lösung Einspritzungen gemacht, aber es zeigten sich dennoch Nekrosen an der Haut. An der Stelle, an welcher die Einspritzungen mit gelben, kolloidalen Arsen gemacht wurden, war nur eine kleine schmerzlose Verhärtung.

Nach 12 Tagen wurden die Einspritzungen unterlassen, denn der Bauch des Hundes war voll nekrotischer Wunden. Im Ganzen wurden sechs Einspritzungen mit der roten Lösung gemacht und sechs mit der gelben.

Der Hund wiegt nur noch 13 kg. Der Urin wurde jeden Morgen untersucht und war immer normal.

Versuch 17.

4. VI. 1907. Diesmal wurden einem weiblichen Hunde von 4,700 kg Gewicht alltägliche Einspritzungen von 1 ccm der gelben, kolloidalen Arsenlösung gemacht, um zu beobachten, welchen Einfluß kleine Mengen kolloidalen Arsens auf das Gewicht des Tieres haben. Der Hund durfte nach Belieben fressen.

Während der ganzen Versuchszeit schwankt das Gewicht des Tieres zwischen 4,300 und 5 kg; jedoch neigt es eher zum Abnehmen als zum Zunehmen. Nach 15 Tagen ist das Gewicht noch 4,200 kg.

Das kolloidale Arsen per os.

Wir wollten auch beobachten, welche Wirkung das kolloidale Arsen hat, wenn es durch den Mund in den Körper eingeführt wird.

Versuch 18.

1\. VI. 1907. Einem kleinen Hund von 3 kg Gewicht werden mittels einer Sonde 9 ccm kolloidales Arsen, rote Lösung *a*, durch das Maul in den Magen eingeführt, im ganzen 0,0495 g As_2S_3 und 0,00189 g As_2O_3 (pro kg 0,0165 g As_2S_3 und 0,00063 g As_2O_3). Nach einigen Stunden erbricht der Hund eine schleimige Flüssigkeit, in welcher Flocken präzipitierten Trisulfids sind. Am andern Tag befindet er sich wieder wohl und frißt mit Appetit.

3\. V. 1907. Demselben Hund (3 kg Gewicht) werden mit der Sonde 20 ccm derselben koll. Arsenlösung verabreicht, d. h. im ganzen 0,1102 g As_2S_3 und 0,0042 g As_2O_3 (pro kg 0,0367 g As_2S_3 und 0,0014 g As_2O_3). Der Hund muß sich von neuem erbrechen, weiter nichts. Am folgenden Tage geht es ihm wieder gut.

6\. VI. 1907. Demselben Hund (2,800 kg Gewicht) werden mit der Sonde 4 ccm kolloidalen, roten Arsens verabreicht, d. h. im ganzen 0,2204 g As_2S_3 und 0,0084 g As_2O_3 (pro kg 0,0787 g As_2S_3 und 0,003 g As_2O_3). Der Hund hat Erbrechen, Diarrhöe und will nicht mehr fressen; am andern Tage ist ihm wieder besser, und er frißt wieder.

10\. VI. 1907. Demselben Hund (2,700 kg Gewicht) werden mittels der Sonde 70 ccm kolloidalen Arsens in den Magen eingeführt, d. h. im ganzen 0,3857 g As_2S_3 und 0,0147 g As_2O_3 (pro kg 0,1465 g As_2S_3 und 0,0054 g As_2O_3). Der Hund erbricht hastig, und nach wenigen Stunden verendet er.

Die Sektion wird gleich gemacht. Die Organe sind normal, nur die Nieren sind gelblich in der corticalen Substanz. Der Magen enthält blaßgelbe, schleimige Flüssigkeit und so auch das ganze Gedärme. Gastritis und Enteritis werden nicht gefunden. Der aus der Blase entnommene Urin enthält viel Albumin.

Die Versuche ergeben, daß das kolloidale Arsentrisulfid, das im Magen durch die darin enthaltene Salzsäure präzipitiert, nicht absorbiert wird, unschädlich ist, und keine Entzündung des Darmkanals hervorruft.

Intravenöse Einspritzungen präzipitierten Arsentrisulfids.

Um die physiologische Wirkung des koll. Arsentrisulfids näher erläutern zu können, haben wir unsere Untersuchungen durch zwei weitere Versuche vervollständigt. Dabei spritzten wir in die Venen zweier Hunde reines, in destilliertem Wasser suspendiertes Arsentrisulfid. Das Arsentrisulfid präparierten wir dadurch, daß wir Schwefelwasserstoff durch eine gesäuerte Arsenigsäureanhydrid-Lösung passieren ließen. Das Präzipitat wurde dann wiederholt in warmem Wasser gewaschen.

Versuch 19.

3. VI. 1907. Einem Hund von 13 kg Gewicht werden langsam in die Venen 11 cg in destilliertem Wasser suspendiertes Arsentrisulfid eingespritzt. Bevor die Einspritzung gemacht wurde, war das Trisulfid lange zerrieben und zu winzigen Körnchen reduziert worden. Der Hund erleidet gar keine Störung durch die Einspritzung; am folgenden Tag befindet er sich wohl, und der Urin ist normal.

Versuch 20.

9. VI. 1907. Einem Hund von 10 kg Gewicht spritzt man langsam 70 cg in destilliertem Wasser suspendiertes Arsentrisulfid in die Venen ein. Dieses Arsentrisulfid enthält gröbere und schwerere Körnchen als jenes, das im Versuch 19 verwendet wurde; trotz langen Zerreibens setzt es sich sehr rasch.

$^1/_2$ Stunde nach der Einspritzung verendet der Hund. Die sofort gemachte Sektion ergibt intensives Lungenödem.

Aus diesen Versuchen lassen sich folgende Schlußsätze ziehen:

1. Man kann verschiedene Typen von Lösungen kolloidalen Arsensulfids herstellen. Sie unterscheiden sich dadurch voneinander, daß sie verschieden große Körnchen enthalten und verschieden gefärbt sind; die Farbe wechselt von Kanariengelb bis Orangerot.

2. Aus den Lösungen kolloidalen Arsensulfids kann man das Arsenigsäureanhydrid und den Schwefelwasserstoff nicht vollständig entfernen: Wahrscheinlich besteht zwischen den 3 Komponenten ein Gleichgewicht nach folgender Gleichung:

$$As_2O_3 + 3\,H_2S \rightleftarrows As_2S_3 + 2\,H_2O.$$

3. Für die verschiedenen Lösungen kolloidalen Arsensulfids ist die minimal tödliche Dose bei Einführung in die Venen gleich und beträgt ungefähr 9 mg pro kg des Tieres (Hund).

4. Das Zustandekommen des Todes ist je nach der angewandten Lösung verschieden.

Das Kolloid mit amikronischen Körnchen (orangerot) ist beinahe gar nicht stabil und tötet das Tier durch akutes Lungenödem, ruft aber keine Nephritis und Enteritis hervor.

Das Kolloid mit submikronischen, sehr kleinen oder groben Körnchen (Citronengelb) ist sehr stabil, ruft kein Lungenödem hervor, aber intensive Ne-

phritis und hämorrhagische Enteritis und führt dadurch den Tod herbei.

5. Die Tiere können sich nicht an das kolloidale Arsen anpassen, und die chronische Vergiftung durch Arsen mit amikronischen Körnchen in wiederholten Dosen, die unter der tödlichen sind, eingespritzt, hat Abmagerung und Kachexie zur Folge.

6. Das kolloidale Arsensulfid hat keine wahrnehmbare Wirkung auf die Temperatur des Tieres.

7. Es sondert sich in den Nieren ab und findet sich wieder als winzige, gelbe präzipitierte Kryställchen in den Nierenkanälchen und im Urin.

8. Das Kolloid mit amikronischen Körnchen verursacht, wenn es unter die Haut gespritzt wird, intensive Nekrosen der Haut und des Unterhautbindegewebes, während das mit submikronischen Körnchen die Haut wenig oder gar nicht verändern.

9. Täglich wiederholte Einspritzungen von je 1 ccm Kolloid mit submikronischen Körnchen verursachten Abnahme des Gewichtes.

10. Werden pro kg 1—3 cg kolloidalen Arsensulfids per os verabreicht, dann muß das Tier erbrechen; der Organismus ist aber weiter nicht gefährdet. Es ist nur durch die in ihm enthaltene Arsenigsäure giftig.

11. Wird präzipitiertes Arsentrisulfid suspendiert in die Venen eines Tieres eingespritzt, dann stirbt das Tier an Lungenödem, sofern die Körnchen nicht äußerst klein sind. Wenn indessen die Körnchen ganz winzig klein sind, können 9 mg pro kg eingespritzt werden, ohne zu schaden.

12. Eine Einspritzung einer mäßigen Dose kolloidalen Arsensulfids (Lösung *a*) verursacht ein vorübergehendes Sinken des Blutdruckes; eine zweite Einspritzung hingegen, die gemacht wird, nachdem der Blutdruck wieder normal geworden ist, beeinflußt diesen nicht mehr. Wenn es sich aber um eine große Dose handelt, sinkt der Druck nicht so rasch; aber das Sinken hält bis zum Tode an, der

durch ein Lungenödem herbeigeführt wird (wie beim rotbraunen Silber).

Die verschiedenen Lösungen kolloidalen Arsensulfids führen den Tod auf verschiedene Weise herbei. Ähnliches können wir beim kolloidalen Silber beobachten: die rotbraune Lösung tötet das Tier durch Lungenödem und die olivgrüne durch Nephritis. Das Lungenödem wird hervorgerufen durch eine Störung im Kreislauf der Lungen (Oedem ex vacuo). Beim Silber war diese Störung durch gesteigerte Viscosität des Blutes gegeben, wodurch dieses, da es mit großer Schwierigkeit die Lungencapillaren passiert und bei dem auf jeden Inspirationsakt folgenden Rückströmen von Blut in die Lungen, das Innere der Alveolen mit Blutplasma anfüllt, beim Arsen tritt vielleicht zu diesem noch der Umstand hinzu, daß das Trisulfid im Kreislauf ausfällt. In der Tat wird durch die Einspritzung der Lösung *a* in die Venen Lungenödem hervorgerufen; diese Lösung *a* ist beinahe gar nicht stabil und durch Beifügen von ein wenig Blut in großen Flocken ausfällbar.

Aus demselben Grunde tötet das präzipitierte Arsentrisulfid durch Lungenödem, wenn seine Körnchen nicht äußerst fein zerteilt sind (Versuch 20).

Es ist jedoch zu beachten, daß wir bei den Versuchen über die chronische Vergiftung gefunden hatten, daß der Tod eintrat, wenn die minimal tödliche Dosis erreicht wurde, und daß diese beinahe gleich war für die Lösungen, welche Ödem verursachten, wie für die, welche es nicht verursachten, und daß im Falle der chronischen Vergiftung, wenn die tödliche Dosis erreicht wird, das Tier immer an Kachexie und nie an Lungenödem stirbt (Versuch 13, 14, 15).

Wir müssen deshalb annehmen, daß, wie die Einspritzungen steigender Dosen kolloidalen Silbers das Zustandekommen kolloidaler Verbindungen mit dem Plasma hervorrufen, welche, wenn man bei den großen Dosen anlangt, die Vermehrung der Viscosität verhinden, so auch beim kolloidalen Arsen aufeinanderfolgende Einspritzungen kleiner Mengen die Bildung nicht präzipitierter Verbindungen herbeiführen, welche das sukzessive Präzipitieren des Arsenkolloids und auch nur das Vermehren der Viscosität verhindern und deshalb kein Lungenödem verursachen.

Was den Umstand anbetrifft, daß 8 bis 9 mg (pro kg) Arsentrisulfid im kolloidalen Zustand eingespritzt, im Kreislauf im Kontakt mit dem Blut ausfallend, das Tier töten, während dieselbe Quantität oder eine noch größere schon präzipitierten und äußerst fein pulverisierten Arsentrisulfids, in den Kreislauf eingeführt, nicht tötet, dafür müssen wir den Grund in zwei Dingen suchen. Einerseits in dem Zustandekommen von Verbindungen, welche giftig sind, in deren Nichtbildung und bei dem als feines Pulver eingespritzten Trisulfid, andererseits im Volumen der im Kreislauf gefällten Körnchen. Diese Körnchen sind, wenn sie sich durch Präzipitieren des Kolloids im Kreislauf bilden, sehr grob und von flockigem Aussehen, weil mit ihnen ein Teil des Kolloids des Plasmas ausfällt, während das präzipitierte und fein pulverisierte in Wasser suspendierte Trisulfid ganz winzige Körnchen enthält. In Versuch 20, in dem das präzipitierte Trisulfid das Tier tötet, müssen wir diese tödliche Wirkung eher als der großen Dosis dem Umstand zuschreiben, daß in diesem Versuch ein gröberes und weniger fein zerreibbares Präzipitat verwendet wurde.

Die Größe der Körnchen des Präzipitates kann sehr variieren, je nach der Konzentration der Arsenigsäureanhydridlösung und der Schnelligkeit, mit der man den Schwefelwasserstoff hindurchströmen läßt.

Hyrgol.

Zum Unterschied von den edlen Metallen konnte man das Quecksilber bis jetzt noch nicht rein und stabil im kolloidalen Zustande herstellen, oder doch nur äußerst schwierig. Lottermoser[1]) präparierte das kolloidale Quecksilber nach wiederholtem Versuche folgendermaßen: Er schüttete eine sehr verdünnte Quecksilbernitratlösung in eine auch sehr verdünnte Lösung von Zinnoxyd und Salpetersäure und schüttelte fortwährend. Man erhält eine dunkelbraune Flüssigkeit, welcher man eine konzentrierte Lösung von Ammoniumcitrat zusetzt, dann neutralisiert man mit Ammoniak, indem man schüttelt

---

[1]) Lottermoser, Über kolloidales Quecksilber (Journ. f. prakt. Chem. 2, 52, 484). Kolloidales Silber und Quecksilber in chemischer Beziehung. Therap. Monatsh. 13, 159.

und dabei vermeidet zu erwärmen. Die Flüssigkeit wird schwarz, und es setzt sich ein geringer Niederschlag ab, der sich dadurch sammeln läßt, daß man durch eine Chamberland-Kerze filtriert; er bildet einen Teig von metallischem Glanz, der getrocknet sich in Wasser löst. Gutbier und Billitzer versuchten, das Quecksilber noch reiner herzustellen, als es mit der Lottermoserschen Methode möglich ist, aber nach wiederholtem Probieren kamen sie zu dem Resultat, daß auf chemischem Wege sich nur ein Hydrosol herstellen läßt, das sich sehr rasch umwandelt und sich nicht konservieren läßt. Im Handel existiert ein Produkt, Hyrgol genannt, das auf chemischem Wege nach Carey Leas Methode hergestellt wird. Dieser zufolge mischt man durch Schütteln eine verdünnte Quecksilbernitratlösung mit einer ebenfalls verdünnten Zinnnitratlösung. Aus dieser Mischung präcipitiert man das Kolloid dadurch, daß man eine konzentrierte Lösung von Ammoniumcitrat hinzufügt, nachdem man mit Ammoniak neutralisiert hat. Man erhält ein schwarzes, in Wasser lösliches Pulver. Diese Lösung jedoch enthält nicht nur metallisches Quecksilber, sondern nach Hoehnel[1]) noch viele Unreinlichkeiten: Ammonium- und Natriumsalze, Citrate und nur 1,80 % Quecksilber. Unsere Versuche über Hyrgol waren bereits angefangen, als eine Arbeit von G. Astolfoni über das gleiche Thema erschien. Von dieser gerade aus dem Drucke hervorgegangenen Arbeit hatten wir nur durch eine kurze Zusammenfassung der von Astolfoni der medizinischen Akademie von Padua am 28. Januar 1907[2]) gemachten Mitteilungen Kenntnis. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren folgende:

1. Die tödliche Dose des durch den Magen oder die Haut eingeführten Hyrgols ist beim Kaninchen und dem Meerschweinchen weit unter jener der anderen Quecksilberverbindungen. 2. Das Quecksilber wird hauptsächlich durch den Kot ausgeschieden, geringe Mengen aber auch durch den Urin und mit sonstigen Ausscheidungen und verschwindet in ungefähr 6 bis 18 Tagen ganz aus dem Körper. 3. Das Metall lokalisiert sich besonders in

[1]) Hoehnel, Das kolloidale Quecksilber des Handels (Pharm. Zeitschr. 43, 868, 1898); Bardel, Les nouveaux remèdes 1904, 100 u. 101.

[2]) Il Policlinico 1907, 209.

der Leber, den Nieren und den Darmwänden; in der Milz, im Herzen, in den Lungen und im Gehirn werden nur kleine Mengen gefunden. Wir werden nun über unsere Versuche berichten.

Versuch 1.

In die Saphena eines Hundes von 5 kg Gewicht werden 50 ccm mit arabischem Gummi stabilisiertes Hyrgol zu 1°/₀₀ eingespritzt. Normale Temperatur war 38,1°. 1 Stunde nach der Einspritzung ist sie bis 38,8° gestiegen, 3 Stunden nachher bis 39,2°, und nach 6 Stunden ist sie wieder bis 37° gesunken. Das Tier ist in tiefem Koma. Nachts darauf hat es reichliche Diarrhöe und am folgenden Morgen verendet es. Bei der Sektion kann man mit dem bloßen Auge nichts Bemerkenswertes an den Organen erkennen. Man findet jedoch akute, hämorrhagische Enteritis; der aus der Blase post mortem entnommene Urin ist sehr albuminhaltig und reich an körnigen Zylindern.

Versuch 2.

Einem Hunde von 5500 g Gewicht werden in die Saphena 50 ccm 1°/₀₀ stabilisiertes Hyrgol eingespritzt. Die Temperatur steigt nach Verlauf von 3 Stunden von 38,3° auf 40,8°. Am andern Morgen liegt der Hund in tiefem Koma, bleibt unbeweglich zusammengekauert und hat oberflächliche Atmung. Die Temperatur ist kaum 34°! In diesem Zustande verharrt er lange Zeit und stirbt dann unmerkbar. Bei der Sektion findet man profusen Darmkatarrh. Obwohl der Hund, der immer überwacht worden war, seit ungefähr 12 Stunden keinen Urin entleert hatte, findet man keinen in der Blase. Speichelfluß ist nie bemerkt worden.

Versuch 3.

Einem Hunde von 19 kg Gewicht werden in die Saphena 20 ccm 1°/₀₀ Hyrgol eingespritzt. Tags darauf wird eine weitere Einspritzung von 60 ccm gemacht. In der auf die zweite Einspritzung folgenden Nacht hat der Hund profuse Diarrhöe und verliert 2 kg Gewicht. Am dritten Tage werden nochmals 50 ccm der Hyrgollösung eingespritzt. Die hämorrhagische Diarrhöe hält an, der Urin ist sauer und sehr albuminhaltig, auch sind viele körnige Zylinder darin. Die Einspritzungen werden nun eingestellt, und 7 Tage nachher verendet der Hund. Die hämorrhagische Diarrhöe und die Albuminurie haben bis zum Tode angehalten.

Versuch 4.

An drei aufeinanderfolgenden Tagen wird je eine Einspritzung von 1°/₀₀ Hyrgol unter die Haut gemacht. Nach kurzer Zeit verschwindet die eingespritzte Flüssigkeit, aber nach Verlauf vieler Tage ist noch ein dunkler Fleck im Unterhautbindegewebe. Das Quecksilber ist also dem Bindegewebe einverleibt geblieben, obwohl die eingespritzte Lösung stabilisiert gewesen war. Der Urin war immer normal geblieben.

Versuch 5.

Einem Hunde von 6 kg Gewicht werden in die Saphena 60 ccm 1 $^{0}/_{00}$ Hyrgol eingespritzt. Der Blutdruck in der Carotis wird während $1^{1}/_{2}$ Stunden aufnotiert. Man beobachtet gar keine Wirkung auf die Blutdruckskurve. Nach 5 Stunden ist der Hund wieder in tiefer Betäubung und in der Nacht verendet er.

Versuch 6.

Einem Hunde von 3,950 kg Gewicht werden mittelst einer Sonde 40 ccm 1 $^{0}/_{00}$ Hyrgol in den Magen eingeführt. Nach $^{1}/_{2}$ Stunde erbricht er eine schwarzbraune Flüssigkeit, in welcher beinahe alles Hyrgol enthalten war. Am andern Tage hat das Tier keine Diarrhöe und auch keinen albuminhaltigen Urin und befindet sich wohl.

Versuch 7.

Derselbe Versuch wird an einem Hunde von 3,500 g Gewicht gemacht. Die Resultate sind dieselben wie beim vorhergehenden Versuch.

Versuch 8.

Einem Kaninchen von 1,600 kg Gewicht werden mit einer Sonde 30 ccm Hyrgol in den Magen getan. In der Nacht hat es dunkle, breiige Diarrhöe. Am folgenden Tage wird es geschlachtet. Die Sektion ergibt eine intensive, hämorrhagische Enteritis. Der aus der Blase entnommene Urin ist alkalisch, enthält viel Albumin und hyaline und körnige Zylinder.

Elektrisches kolloidales Quecksilber.

Das Quecksilber, welches wir benutzten, wurde aus ganz reinem Metall nach der von Charpentier und Guilloz[1]) angegebenen Methode hergestellt. Mit arabischem Gummi stabilisiert, bildete es die ersten Tage einen Niederschlag. Die filtrierte Lösung teilte sich in zwei Schichten, von denen die obere durchsichtiger war. Nachdem man aber die Lösung tüchtig geschüttelt hatte, blieb sie dauernd homogen. Auch Stodel[2]) hatte dasselbe wahrgenommen. Die Lösung wurde deshalb einige Tage nach der Herstellung verwendet und war jetzt dunkelgrau gefärbt und sehr opak, so daß sie mit 6 Volumen destillierten Wassers verdünnt werden mußte, bis sie anfing, durchscheinend zu werden und dadurch eine gelbliche Farbe anzunehmen. Diese Lösung enthielt 0,5 $^{0}/_{00}$ metallischen Quecksilbers. Schon Charpentier und Guilloz hatten be-

[1]) Charpentier u. Guilloz, Compt. rend. Soc. Biol. 1907, 817.

[2]) Stodel, Compt. rend. Soc. Biol. 1908, 66. Siehe auch Stodel, Thèse de Paris 1908.

merkt, daß die subcutanen Einspritzungen von 1 ccm schmerzlos sind und keine Quecksilbervergiftungssymptome hervorrufen, selbst nicht, wenn an einem Tage 50 ccm eingespritzt werden. Wir machten einer Hündin von 4 kg Gewicht eine Einspritzung von 26 ccm unserer Lösung[1]) und beobachteten, daß die Temperatur in $1^1/_2$ Stunden von 39° auf 40,2° stieg und dann nach 4 Stunden wieder bis 39° sank. Der Urin ist an den auf die Einspritzung folgenden Tagen normal.

Das Quecksilber teilt also mit den andern kolloidalen Metallen die Eigenschaft, die Temperatur des Körpers zu erhöhen. In die Venen einer Hündin von 5 kg Gewicht wird 8 Tage lang je eine Einspritzung von 1 ccm kolloidalen, nach der elektrischen Methode gewonnenes Quecksilber gemacht. Nie wurde die geringste Störung wahrgenommen, und der Urin blieb normal. Unter die Haut und in die Muskeln eingespritzt, wird das kolloidale, elektrische Quecksilber rasch absorbiert.

Kalomelol.

Das Kalomelol ist kolloidales Kalomel, das von der chemischen Fabrik Heyden in den Handel gebracht wird. Wir kennen keine Untersuchungen, die seine chemische Natur genau festlegen. Wir präparierten unsere Lösung folgendermaßen: In kaltem Wasser lösten wir Kalomelol, soviel sich lösen ließ, und wenn es sich nicht um eine kolloidale Lösung gehandelt hätte, so hätte man sie gesättigt nennen können. Indem wir den trockenen Rückstand eines bestimmten Volumens der filtrierten Lösung wogen, fanden wir 0,2 °/₀ Trockensubstanz.

Versuch 1.

Einem jungen Hunde von 3,900 kg Gewicht werden in die Saphena 50 ccm der Kalomelollösung (10 cg) eingespritzt. Das Tier ist von Zittern befallen, das nach $^1/_2$ Stunde nachläßt, und hat reichlichen Speichelfluß. Am folgenden Tage hat er keinerlei Störungen, weder Diarrhöe noch Albuminurie.

Versuch 2.

Einem jungen Hunde von 4 kg Gewicht werden mittels einer Sonde 50 ccm der Kalomelollösung in den Magen eingeführt. Er hat weder Erbrechen noch Speichelfluß. In der Nacht hat er heftige Diarrhöe und

[1]) Wir bestimmten das Quecksilber auf elektrischem und chemischem Wege. Siehe auch Rebière, Compt. rend. Soc. Biol. 1908, 150.

entleert dunklen und breiigen Kot. Der Urin enthält kein Albumin. Am zweiten Tage ist der Kot dunkel und geformt; die Diarrhöe hat nachgelassen. Der Urin ist immer normal.

Versuch 3.

Einem Hunde von 5 kg Gewicht wird während 5 Tagen je eine Einspritzung von 2 ccm der Kalomelollösung unter die Haut gemacht. Die Einspritzungen sind anscheinend nicht schmerzhaft. Nach 5 Tagen wird der Hund geschlachtet; die Haut wird an der Stelle geöffnet, an welcher die Einspritzungen gemacht wurden, und man findet nur eine leichte Infiltration des Unterhautbindegewebes. Der Urin ist normal.

Kolloidales Eisenhydrat.

Es ist im Handel in Form von kleinen, rotbraunen, im Wasser löslichen Splitterchen. Die Lösung ist sehr hell und braunrötlich. Wird es zum Zwecke der Dialyse in Kolloidsäckchen gefüllt, dann nimmt es sehr viel Wasser auf; es enthält also außer dem Kolloid noch andere Substanzen, welche dialysieren, wahrscheinlich einen Teil nicht umgesetzten Eisenchlorids. Wir verwendeten eine Lösung, die während eines Monats in Kolloidsäckchen gegen destilliertes Wasser dialysiert war und nach der Dialyse 0,70 °/₀ Eisenoxyd enthielt.

Einem Hunde von 6 kg werden in die Saphena 70 ccm der Lösung eingespritzt. Der Hund hat davon keinerlei Störung, außer am andern Tage ein wenig Diarrhöe, der Urin ist normal. Bei Einspritzungen unter die Haut wird der flüssige Teil der Lösung rasch absorbiert, aber das Eisen setzt sich im Unterhautbindegewebe fest, und dieses ist noch 8 Tage nach der Einspritzung infiltriert und rostig.

Es ist der Umstand zu beachten, daß man das Eisenhyrat als elektropositives Kolloid ohne Schaden in die Venen einspritzen kann, während es in vitro mit Blutserum vermischt eine Ausfällung der Proteinsubstanzen herbeiführt, da solche die Eigenschaft besitzen, die roten Blutkörperchen zu agglutiniern. Man muß jedoch annehmen, daß es im zirkulierenden Blut mit den negativen Kolloiden des Plasmas nicht präcipitierende Verbindungen eingeht, welche seine agglutinierende und präcipitierende Wirkung aufheben. Das in die Venen eingeführte Eisenhydrat verursacht ein Sinken des Blutdruckes, welcher, wenn die Dose nicht außerordentlich groß war, bald wieder normal wird. Aufeinanderfolgende Einspritzungen

Eisenhydrats verursachen, zum Unterschied vom Silber oder Arsensulfid, jeweils ein Sinken des Druckes (Fig. 6). Ist die Dose sehr groß, dann stirbt das Tier an akutem Lungenödem, wahrscheinlich wegen der sehr gesteigerten Viscosität des Blutes infolge von eintretenden Verbindungen zwischen den negativen Kolloiden des Plasmas und dem positiven Eisen und wegen des Präcipitierens des Kolloids im Kreislauf.

Gold.

Die Lösung kolloidalen Goldes wurde auf elektrischem Wege nach der Bredigschen Methode hergestellt. Die Lösung enthielt 0,32°/₀₀ Gold und hatte intensive violette, ins Rötliche spielende Färbung.

Versuch 1.

Die Temperatur eines Hundes von 4 kg Gewicht schwankt während einer 1/2 Stunde zwischen 37,8° und 38°. Es werden in die Saphena 100 ccm der Goldlösung eingespritzt. Nach 10 Minuten ist die Temperatur bis 36,7 gesunken. Sie steigt dann nach 2 1/2 Stunden bis 39,3° und sinkt nach 5 Stunden wieder bis 37,8°. 6 Stunden nach der Einspritzung ist der Hund in tiefem Collapsus und nachts verendet er. Die Sektion ergibt intensive hämorrhagische Enteritis; der aus der Blase entnommene Urin ist dunkel und opak wie Blut. Die Untersuchungen mit dem Spektroskop und dem Guajak-Harz ergibt reichlichen Hämoglobingehalt. Im Sediment sind viele körnige Zylinder und Detritus von Zellen.

Versuch 2.

Hund von 6 kg Gewicht. Normale Temperatur 38,9°. Es werden in die Saphena 50 ccm der Goldlösung eingeführt, und der Blutdruck in der Carotis wird aufgeschrieben. Die Temperatur steigt 2 1/2 Stunden nach der Einspritzung bis 40,1° und nach 3 1/2 Stunden bis 40,9°. Am folgenden Tage ist sie noch 39,5°. Der Urin enthält nur Spuren von Albumin. Am dritten Tage ist er wieder normal; der Hund frißt und befindet sich wohl.

Versuch 3.

Dem Hunde, der zum vorher beschriebenen Versuch diente, werden 3 tägliche Einspritzungen von je 1 ccm unter die Haut gemacht. Nachdem 8 Tage seit der ersten Einspritzung verstrichen sind, werden an der Stelle, an welcher die Einspritzungen gemacht wurden, Einschnitte gemacht, und man sieht, daß das Unterhautbindegewebe leicht infiltriert und rötlich-blau ist; also hat sich das Gold hier festgesetzt.

Platin.

Eine kolloidale Platinlösung wurde nach der Bredigschen Methode ziemlich stark konzentriert zu 0,72°/₀₀ hergestellt.

Versuch 1.

Einem Hunde von 10,500 kg Gewicht wird die Temperatur gemessen; sie ist 38,2°. Dann werden in die Saphena 100 ccm der stabilisierten Platinlösung eingespritzt. Während $^1/_2$ Stunde etwa hat der Hund große Dispnöe; dann wird er ruhiger und hat keine weiteren Störungen mehr. Nach 1 Stunde ist die Temperatur 38,3°, nach 3 Stunden 37,9°. Der Hund überlebt und hat keine weiteren Störungen mehr. Am andern Tage ist der Urin sauer und enthält kein Albumin; die Temperatur ist bis 39,6° gestiegen. Es werden nun noch 50 ccm derselben Platinlösung in die Saphena eingespritzt. Die Temperatur, zuerst von 10 Minuten zu 10 Minuten, dann von $^1/_2$ Stunde zu $^1/_2$ Stunde gemessen, schwankt während 6 Stunden zwischen 39,6° und 39°. Der Hund überlebt ohne jegliche Störung.

Versuch 2.

Einem Hunde von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 100 ccm derselben stabilisierten Platinlösung eingespritzt. Die normale Temperatur ist 38,7°. Sie schwankt während 6 Stunden nach der Einspritzung zwischen 38,7° und 37,9°. Am folgenden Tage ist sie bis 39,6° gestiegen. Der Urin ist sauer und normal.

Versuch 3.

Dem Hunde des vorhergehenden Versuches werden 2 ccm der Platinlösung unter die Haut eingespritzt. In wenig Stunden ist die Flüssigkeit absorbiert; aber nach 8 Tagen noch bemerkt man da, wo die Einspritzung gemacht wurde, eine graubraune Färbung des Unterhautbindegewebes; das Platin hat sich dort abgelagert.

Versuch 4.

Einem Hund von 10 kg Gewicht werden in die Saphena 300 ccm der Platinlösung eingespritzt. Die normale Temperatur war 38,1°. Während der folgenden 6 Stunden schwankt die Temperatur zwischen 37,6° und 38,6°. Der Hund überlebt ohne Störungen; sein Urin ist normal.

Versuch 5.

Einem Hunde von 3 kg Gewicht werden in die Saphena 50 ccm der Platinlösung eingespritzt. Der Blutdruck in der Carotis wird notiert. Die normale Temperatur war 38,5°.

Die Blutdruckskurve wird von der Einspritzung gar nicht beeinflußt. (Fig. 7.) Am nächsten Tage ist die Temperatur bis 40,8° gestiegen.

Zusammenfassung.

1. Wird das Hyrgol (kolloidales Quecksilber) in großen Dosen in die Venen eingespritzt, so verursacht es in den ersten Stunden ein beträchtliches Steigen der Temperatur; sie sinkt

darauf wieder, gleichzeitig wird das Tier tief betäubt und stirbt dann bald.

2. In diesem Falle wird der Tod durch Enteritis und hämorrhagische Nephritis herbeigeführt. Manchmal bleibt nach einer Einspritzung die Harnabsonderung vollständig aus, und das erklärt vielleicht den Zustand tiefer Betäubung, in den das Tier versetzt wird.

3. Werden große Dosen Hyrgol in die Venen eingespritzt, so wirken sie nicht unmittelbar auf den Blutdruck.

4. Unter der Haut wird das Hyrgol nicht resorbiert, und das Metall lagert sich im Unterhautbindegewebe ab.

5. Der Magen verträgt das Hyrgol nicht, der Hund erbricht es und rettet sich auf diese Weise vor der Vergiftung. Das Kaninchen hingegen kann nicht erbrechen und das Hyrgol ruft bei ihm Enteritis und akute Nephritis hervor.

6. Wird das kolloidale, elektrische Quecksilber in die Venen eingespritzt, dann steigt die Temperatur beträchtlich. Tägliche Einspritzungen von je 1 ccm in die Venen werden gut ertragen und der Urin bleibt immer normal. In die Haut oder Muskeln eingeführt, wird es rasch resorbiert.

7. Das Kalomelol (kolloidales Kalomel), in die Venen eingespritzt, verursacht keine Nephritis, aber starken Speichelfluß. Mit der Sonde in den Magen eingeführt, wirkt es abführend, und vielleicht bildet es Niederschläge mit den Verdauungssäften, indem es sich in gewöhnliches Kalomel umwandelt. Unter der Haut wird es nach wenigen Stunden vollständig resorbiert.

8. Das kolloidale Eisenhydrat kann in einer Dose von 7 cg in die Venen eingespritzt werden, ohne daß es dem Tiere irgendeine Störung verursacht. Wenn man sich daran erinnert, daß in vitro das Eisenhydrat (elektropositives Kolloid) mit den elektronegativen Kolloiden des Serums präcipitiert und die roten Blutkörperchen agglutiniert, erscheint dieses Resultat im ersten Augenblick seltsam. Wenn dieser Vorgang im Kreislauf nicht stattfindet, so ist die Ursache davon, daß vielleicht die Dosis des eingespritzten Kolloids nicht genügend groß ist und es mit den Kolloiden des zirkulierenden Plasmas nicht präcipitierbare Verbindungen eingeht. Nach einer Einspritzung kolloidalen Eisens (im Text nachzusehen) sinkt der Blutdruck vorübergehend.

Unter die Haut eingespritzt, präcipitiert das Eisen im Unterhautbindegewebe.

9. Spritzt man 16 cg kolloidalen, elektrischen Goldes in die Venen eines Hundes von 6 kg Gew., so steigt die Temperatur, der Urin ist vorübergehend leicht eiweißhaltig. Die doppelte Dosis tötet das Tier durch intensive Enteritis und hämorrhagische Nephritis. Unter die Haut eingespritzt, wird es nicht resorbiert und lagert sich im Unterhautbindegewebe ab.

10. Vom kolloidalen, elektrischen Platin werden intravenöse Einspritzungen großer Dosen (2 dcg für einen Hund von 10 kg) ertragen; es bildet sich weder Lungenödem noch Enteritis und Nephritis.

Das Tier hat vorübergehend Dispnoe, erholt sich aber bald wieder; seine Temperatur steigt nicht oder doch erst lange nach der Einspritzung. Das Platin beeinflußt, im Gegensatz zum Silber, den Blutdruck nicht und anscheinend auch nicht den Stoffwechsel erheblich nach dem geringen Einflusse zu urteilen, den es auf die Temperatur ausübt, und weil der Urin sauer bleibt. Das Silber macht den Urin alkalisch und sehr phosphorsäurehaltig.

Untersuchungen über die Ursachen, welche das Lungenödem herbeiführen und den Blutdruck verändern.

Wir beobachteten beim kolloidalen Silber, daß, wenn es anfangs in kleinen Dosen in den Körper eingeführt wird, sich dieser daran gewöhnt und dann unbeschadet Dosen verträgt, die über die tödlich wirkende hinausgehen. Eine Form des Anpassens ist auch jene, welche wir bemerkten, als wir Untersuchungen über den Blutdruck anstellten. Nach der ersten Einspritzung von Silber oder Arsensulfid sinkt der Blutdruck, wird aber dann wieder normal. Eine zweite Einspritzung hat keine Wirkung mehr. Wie können wir uns diese Anpassung erklären?

Wir müssen daran erinnern, daß eine starke Einspritzung in einen dem Kolloid nicht angepaßten Hund eine beträchtliche Steigerung der Viscosität des Blutes mit Lungenödem hervorruft, während eine noch größere Dosis bei einem angepaßten Hund diese beiden Erscheinungen nicht hervorruft. Im ersten Falle kann man das Lungenödem dadurch erklären,

daß man annimmt, daß das äußerst viscöse Blut mit großer Schwierigkeit in den Lungencapillaren zirkuliert. Da nun bei jeder Einatmung Blut in die Lungen eintritt und Blutplasma in das Innere der Alveolen eingezogen wird, zugleich damit auf dem Weg der Diapedese eine gewisse Quantität roter Blutkörperchen eintritt, so kommt dadurch hämorrhagisches Lungenödem zustande.

Aber betrachten wir für jetzt nur den Umstand, daß die Viscosität zunimmt bei den nicht angepaßten Hunden und bei den angepaßten sich nicht verändert. Es lassen sich zwei Hypothesen aufstellen: Entweder wirkt das Kolloid Silber auf die Kolloide des Serums, indem es kolloidale Verbindungen eingeht, welche die Viscosität des Serums erhöhen, oder diese Wirkung macht sich nur für die Kolloide des Plasmas geltend. Die zweite Hypothese erscheint wahrscheinlicher, wenn man bedenkt, daß die Erhöhung der Viscosität im zirkulierenden Blut eintritt und auch die Gerinnbarkeit des Blutes modifiziert wird. Übrigens ist es sehr leicht zu zeigen, daß das Silber, in verschiedenen Proportionen dem Blut eines defibrinierten Hundes zugefügt, dessen Viscosität nicht modifiziert.

Hier ein Beispiel:

5 ccm defibrinierten Blutes + 1 ccm kolloidalen, braunrötlichen, mit Kochsalz isotonisch gemachten Silbers. Viskosität $\eta = 4{,}37$.

5 ccm desselben Blutes + 1 ccm physiologischer Lösung von Kochsalz $\eta = 4{,}29$.

Man kann alsdann annehmen, daß sich zwischen dem kolloidalen Silber und den Kolloiden des Plasmas Verbindungen herstellen, welche den Koagulationsprozeß verändern und eine Steigerung der Viscosität des Blutes mit Neigung zu Koagulation hervorrufen, ohne daß diese sich vollziehen kann.

Von diesen Ursachen würde auch das auf eine Einspritzung kolloidalen Silbers oder Schwefelarsens folgende Sinken des Blutdruckes herrühren; dieses Sinken ist vorübergehend, weil, wenn das Blut im Kreislauf sich vermischt, jene Verbindungen, welche beim ersten Eintreten des Kolloids in das Blut sich bildeten, sich wieder auflösen oder sich in irgendeiner Weise verändern.

Aber bei jeder Reaktion von Kolloiden ist es nicht gleichgültig, ob man die Kolloide auf einmal mischt, oder ob man

die Mischung nach und nach vornimmt. Es ist dies eine oft erwiesene Tatsache, und in unserem Falle handelt es sich um ein analoges Phänomen.

Die erste Silbereinspritzung bringt Verbindungen zustande, welche auf die folgenden Einspritzungen nicht mehr reagieren, oder wenigstens nicht mehr so reagieren, daß jene selben Verbindungen wie im ersten Falle hergestellt werden. So ließe sich erklären, wie die Wirkungen der auf die erste folgenden Einspritzungen sich vermindern oder ganz ausbleiben, wie z. B. auf den Blutdruck.

Um beweisen zu können, daß die Veränderung des Blutdruckes mit der Bildung von kolloidalen Verbindungen im Zusammenhange steht, untersuchten wir, welche Wirkungen aufeinanderfolgende Einspritzungen von Kolloiden entgegengesetzten Vorzeichens haben; diese müssen verschiedene Verbindungen herstellen. Im ersten dieser Versuche beobachteten wir, welche Wirkungen einige aufeinanderfolgende Silber- und Eisenhydrateinspritzungen auf den Blutdruck haben. Durch die vorher gehenden Versuche darüber unterrichtet, daß die zweite Silber einspritzung gar keinen Einfluß mehr auf den Blutdruck hat, wollten wir sehen, ob ein Kolloid von entgegengesetztem Ladungswert des Silbers, wie das positive Eisenhydrat, imstande wäre, ihn zu verändern. Fig. 8 zeigt, daß die erste Silbereinspritzung den Druck vorübergebend sinken macht und die zweite ohne Wirkung ist, während, wenn man danach einige Eisenhydrateinspritzungen macht, jede einzelne ein vorübergehendes Sinken zur Folge hat. Es ist festzuhalten, was wir vom Eisenhydrat sagten, nämlich, daß es, wenn wiederholt eingespritzt wird, jedesmal ein vorübergehendes Sinken des Blutdruckes verursacht. Um dem Einwurfe zu begegnen, daß die nach den Silbereinspritzungen durch das Eisen hervorgerufene Wirkung auch das Resultat von zwischen den beiden Kolloiden zustande gekommenen Verbindungen sein könnte, machten wir nach den Eiseneinspritzungen eine nochmalige Silbereinspritzung (Fig. 8, 6) und bemerkten gar keine Veränderung des Blutdruckes. Man könnte sagen, jedes Kolloid wirkt unabhängig und kraft der Verbindungen, die es einzugehen imstande ist.

Die letzte nach den Eiseneinspritzungen gemachte Silbereinspritzung bleibt ohne Wirkung, gerade als wenn jene nicht

gemacht worden wären. Ein zweiter Versuch zeigt uns, daß nicht die Konstitution des Metalls, sondern seiner elektrischen Kraft die beschriebenen Phänomene zuzuschreiben sind. In diesem Versuch machten wir zuerst eine Arseneinspritzung, welche ein langsames, vorübergehendes Sinken des Druckes im Gefolge hatte (Fig. 9). Dieser verändert sich nach einer zweiten Einspritzung nicht mehr; aber als wir drei aufeinanderfolgende Eisenhydrateinspritzungen machten, verursachte jede einzelne ein Sinken des Druckes, und als wir dann anstatt des Arsens ein anderes negatives Kolloid, Silber, einspritzten, blieb diese Einspritzung ohne Wirkung, wie auch eine weitere, nachher gemachte Arseneinspritzung. Zwei zum Schlusse vorgenommene Eiseneinspritzungen haben dann wieder jeweils ein Sinken des Druckes zur Folge. Diese Versuche ergeben die ziemlich gerechtfertigte Hypothese, das die Modifikationen des Blutdruckes gleichen Schritt halten mit dem Zustandekommen von Verbindungen zwischen den Kolloiden des Plasmas und jenen eingespritzten Kolloiden, Verbindungen, die verschieden sind, je nach der Natur der letzteren.

Wirkung der kolloidalen Metalle auf den Stoffwechsel des Organismus.

Viele Arzneimittel verlangsamen, wenn sie in starken Dosen in den Körper eingeführt werden, die Prozesse des Stoffwechsels, während geringe Mengen dieselben beschleunigen und steigern. Kleine Dosen Quecksilber z. B. vermehren die Ausscheidung der Harnsäure,[1]) während große Dosen sie verringern. Benedicenti e Olliaro[2]) fanden, daß das Quecksilber und das Blei die Phosphorfleischsäure in den Muskeln vermindern. Die oxydierte Phosphorfleischsäure im Urin tritt als Milchsäure auf. Die Metalle haben im kolloidalen Zustande sodann viele wichtige Einwirkungen auf den Stoffwechsel des Organismus. Schon Galeotti (l. c.) schloß auf Grund morphologischer Tatsachen, daß die kolloidalen Metalle zum Unterschied

---

[1]) Boeck, Zeitschr. f. Biol. 5, 593. — Noël-Paton, Journ. of Anat. and Physiol, 20, 114. — Cathelinau, Journ. de Pharm. et de Chimie, 25, 504.

[2]) Benedicenti u. Olliaro, Giornale della R. Ac. di Med., Torino 1900, 526.

von den ionisierten verändernd auf den allgemeinen Stoffwechsel der Zellen wirken, und neuerdings schrieb Schade[1]) der katalytischen Wirkung, die das Jod, das Quecksilber und das Eisen auf die organischen Oxydationen ausüben, die größte Wichtigkeit zu. Lépine und Boulud[2]) fanden, daß das Collargol die glykolytische Kraft des Blutes erhöht, und Achard und Weil[3]) konstatierten, daß nach einer Einspritzung kolloidalen Silbers in die Venen zuerst eine vorübergehende Leukopenie sich einstellt, welche von einer Leukocytose mit myelocytischer Wucherung des Knochenmarkes und myeloider Umwandlung der Milz begleitet wird. Neuerdings fanden Feigl und Rollett[4]), daß das Eisen, das Wismut, das Gold, das Platin, das Silber und das Calomel im kolloidalen Zustande die Absonderung der Magensäfte steigern, jedoch muß man annehmen, daß dies das Resultat einer mechanischen Einwirkung des aus dem Magensafte präcipitierten Kolloids ist. In der Tat hat man dasselbe Ergebnis, wenn man schon präcipitiertes Kolloid verabreicht. A. Robin[5]) stellte zuerst Untersuchungen darüber an, welche Veränderungen sich im Stoffwechsel durch Verabreichung kolloidaler Metalle bemerkbar machen. Er ermittelte, daß kolloidales Platin, Palladium, Gold die Ausscheidung des Harnstoffes, der Harnsäure und des Indoxyls vermehren und den respiratorischen Quotienten erhöhen.

M. Ascoli und Izar[6]) bemerken, daß Robin nicht stabilisierte Lösungen, welche nicht auf den Stoffwechsel einwirken, verwendete und machten außerdem den durchaus gerechtfertigten Einwurf, daß in Robins Veröffentlichungen viele Angaben betreffs der technischen Zubereitungen, sowohl Angaben über Maßnahmen, das Individuum im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten,

[1]) Schade, Die Bedeutung der Katalyse für die Medizin. Kiel 1907.

[2]) Lépine und Boulud, Action du collargol sur le pouvoir glycolytique du sang. Compt. rend. 1907, 206.

[3]) Achard u. Weil, Compt. rend. 1907. 93. Siehe auch Filippi, Lo Sperimentale 62, 573, 1909.

[4]) Feigl u. Rolett, Zur Biochemie der Kolloide. Diese Zeitschr. 7, 145.

[5]) A. Robin sowie Robin u. Bardet, Bull. de Thér. 1904, 1905; Gaz. de. Hôpitaux 1904, 137.

[6]) M. Ascoli u. Izar, Physiopathologische Wirkung kolloidaler Metalle auf den Menschen. Berl. klin. Wochenschr. 1907, 21.

als auch bezüglich der Ausführung der Analyse fehlen, so daß die wenigen Angaben Robins sich als ungenügend erweisen. Nichtsdestoweniger bestätigen Ascoli und Jzar in ihren Untersuchungen, daß infolge subcutaner Einspritzungen von kolloidalem, mit steriler Gelatine stabilisiertem Silber und Platin in den Menschen die Ausscheidung der Harnsäure beträchtlich gesteigert wird; die Ausscheidung des im Urin vorhandenen Stickstoffes wird nur wenig erhöht, während die Phosphorsäure unverändert bleibt. Sie zeigen außerdem, daß dieselben Lösungen, wenn nicht stabilisiert oder bis zu 100° erwärmt, ohne Wirkung bleiben.

Dies darf man nicht außer acht lassen, wenn man zu therapeutischem Zwecke bestimmte Lösungen durch Erhitzen sterilisieren wollte; es wäre das ganz und gar zwecklos.

Von den bis jetzt berichteten Tatsachen und vor allem von jenen Versuchen ausgehend, welche zu zeigen strebten, daß die Wirkung der kolloidalen Metalle darin bestehe, daß sie die organischen Oxydationen steigern, Hypothesen, die auch Netter anerkennt, beschlossen wir, die oxydierende Wirkung der kolloidalen Metalle an Versuchen in vitro zu beobachten und dabei auch zu untersuchen, ob diese Metalle außer ihrer eigenen Wirkung nicht auch die Fähigkeit hätten, die Wirkung der im lebenden Organismus vorhandenen Oxydasen zu unterstützen.

Qualitative Untersuchungen über die katalytische Wirkung einiger anorganischer Kolloide allein und in Gegenwart von Oxydasen.

Die Metalle können auch im Ionenzustand wichtige katalytische Wirkungen ausüben. Wir erinnern unter anderem an die oxydierende Wirkung der Mangansalze und des Eisens auf viele Substanzen der Phenolgruppen (G. Bertrand), des Sulfats und des Hyperoxyds auf das Guajac-Harz, sei es direkt[1]) oder die Wirkung der Laccase erhöhend[2]), der Kupfersalze auf die Oxydation des Aloins, des Jodkaliums und des Paraphenylen-

[1]) Bourquelot, Journ. de Phys. et de Chim., 9, 511, 1900.

[2]) Bourquelot u. Boucault, Compt. rend. 1897, 498 und Journ. de Pharm. et de Chim., 4, 1898, 477.

diamins[1]), der Kupfer- und Eisensalze auf die Reaktion der Persulfate und des Jodkaliums, des Jods auf die Wirkung der Peroxydasen[2]), des Quecksilbers auf die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch kolloidales Gold,[3]) des Quecksilberchlorids auf die alkoholische Gärung,[4]) auf die Reduktion des Goldchlorids durch Hydrochinon und auf die Oxydation des Pyrogallols und des Tyrosins durch Laccase resp. Tyrosinase[5]). Alle diese Reaktionen kommen mit Hilfe unendlich kleiner Quantitäten des metallischen Ions zustande und zwar so, daß es nicht bei der Reaktion selbst tätig ist (oder wenigstens nicht permanent), sondern durch katalytisches Einwirken. Stassano (l. c.) zeigt z. B., daß $^1/_{1000}$ Tropfen $^n/_{100}$-Sublimatlösung die Oxydation des Guajacols durch Laccase erleichtert, während $^1/_{10}$ Tropfen derselben Lösung die Oxydation verhindert.

Aber die intensivsten kalalytischen Wirkungen werden von den Metallen im kolloidalen Zustande hervorgebracht, aus dem Grunde, weil sie außerordentlich fein zerteilt sind, so daß bei einer kleinen Quantität Substanz die mit dem umzubildenden Körper in Berührung kommende Oberfläche sehr groß ist. Das metallische Quecksilber z. B. gibt, wenn es mit Guajacharz und Wasserstoffsuperoxyd grob gemischt wird, keine Färbung, wird es aber äußerst fein zu diesen Reaktionen verwendet, so daß es sich in eine große Anzahl winzig kleiner Tröpfchen teilt, die eine Emulsion bilden, so kommt die Oxydation des Guajacharzes durch die katalytische Wirkung des Quecksilbers selbst zustande.

Wie das Quecksilber, so verhalten sich das Platin, Gold, Silber, Eisen, Blei, Kupfer und Aluminium, wenn sie sehr fein pulverisiert sind; außer auf das Guajakharz wirken sie auch auf die Oxydation des Guajacols, des Naphthols[6]) und der Oxalsäure. Macht man hingegen, anstatt das Metall durch Schütteln oder Pulverisieren zu zerteilen, eine kolloidale Lösung auf

---

1) E. Schaer, Arch. de Pharm. 239, 610, 1901 und Liebigs Ann. 223, 32.

2) A. Bach, Arch. de Soc. Phys. et Nat., Genève 23, 1907.

3) Bredig, Anorgan. Fermente, 1902.

4) Schultz, Pflügers Arch. 1888.

5) Stassano, Compt. rend. 1905, 891 u. 893.

6) H. Schade, Über die Metall- und Jodionenkatalyse. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1.

chemischen Wege oder nach der Bredigschen Methode, dann ist die Zerteilung viel feiner, und das Größerwerden der Oberfläche bringt eine viel intensivere katalytische Wirkung mit sich.

Bredig (l. c. S. 45) konnte demonstrieren, daß die von ihm hergestellten kolloidalen Metalle und ganz besonders das Platin nicht nur das Wasserstoffsuperoxyd energisch zersetzen, sondern auch die Oxydation des Guajacharzes, ohne Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd erleichtern, ebenso auch die Oxydation des Indigos; Schaer (l. c. S. 625) fand, daß besonders das Platin und Gold, außer den erwähnten Metallen, die Oxydation der Kupfersalze, des Paraphenylendiamins und in geringerem Grade die des Aloins und des Pyrogallols erleichtern.

Neuerdings fanden M. Ascoli und G. Izar,[1]) daß die Leberautolyse in Gegenwart von kolloidalem Platin, Silber und Gold beschleunigt wird, eine Tatsache, die sich durch die Annahme erklären läßt, daß sie die Wirkung der Fermente, welche die Autolyse herbeiführen, erhöhen.

Später zeigten die genannten Autoren,[2]) daß auch kleine Dosen kolloidalen Eisenhydrats, Aluminiumoxyds, Schwefelarsens und Mangandioxyds die Leberautolyse beschleunigen, und daß[3]) diese Wirkung von eben jenen Giften, von welchen Bredig gefunden hatte, daß sie die katalytische Wirkung der kolloidalen Metalle auf das Wasserstoffsuperoxyd verringern, aufgehoben wird. Daß jedoch die Kolloide diese Wirkung nicht auf alle Fermentationsprozesse haben, beweisen die Versuche von L. Pinkussohn,[4]) welcher fand, daß sie keine oder sogar eine hemmende Wirkung auf die peptische Verdauung der Proteinsubstanzen ausüben. Wir waren bestrebt, systematisch zu untersuchen:

1. ob die kolloidalen Metalle und einige kolloidale Salze eine direkte oxydierende Wirkung haben,

2. ob sie die katalytische Kraft der Oxydasen erhöhen.

---

[1]) M. Ascoli u. Izar, Berl. klin. Wochenschr. 4, 1907.
[2]) M. Ascoli u. Izar, diese Zeitschr. 6, 192.
[3]) M. Ascoli u. Izar, diese Zeitschr. 7, 142.
[4]) L. Pinkussohn, diese Zeitschr. 8, 387, 1908.

Zu diesen Versuchen benutzten wir dieselben Metalle, deren physiologische Wirkung wir untersucht hatten, und zwar:

Platin, Gold, Silber, Mangan nach der Bredigschen Methode hergestellt, kolloidales Arsensulfid, Collargol, Hyrgol, das kolloidale Wismut des Handels, Kalomelol von Heyden und kolloidales Eisenhydrat. Die vier ersten, die nach der Art ihrer Herstellungsweise rein waren, wurden ohne weiteres benutzt, die andern Kolloide wurden einer fortgesetzten Dialyse von mehr als 3 Monaten unterworfen. Sie wurden in von uns hergestellte Kolloidsäckchen gefüllt und dann in destilliertes, oft erneuertes Wasser eingetaucht. Vom kolloidalen Arsensulfid verwendeten wir die Lösungen a, b, c, deren Eigenschaften wir schon beschrieben haben.

Nach der langen Dialyse hatten unsere Kolloide beinahe dasselbe Leitungsvermügen wie das destillierte Wasser ($8 \cdot 10^{-6}$). Sie wurden mit Gummi stabilisiert und in mit Wasserdampf sorgfältig gereinigte Flaschen gefüllt und gut zugepropft; so hielten sie sich lange unverändert.

Katalytische Wirkung.

Die Fähigkeit, das Wasserstoffsuperoxyd katalytisch zu zerlegen, wurde nach der schon beschriebenen Methode festgestellt.

		K =
Platin		29,0
Gold		2,8
braunrötl. Silber		20,0
Mangan		1,5
Collargol		13,2
Hyrgol		70,0
Eisenhydrat		4,0
Wismut		0,0
Arsensulfid	(c)	0,3
„	(d)	0,5
Kalomel		0,4

Oxydierende Wirkung in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd.

Sie wurde folgendermaßen festgestellt: Man machte eine Mischung aus einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsuper-

oxyd, der kolloidalen Lösung und 1 bis 2 Tropfen alkoholischer Tinktur von Guajacharz. Die Gefäße wurden während 15 Minuten bis 2 Stunden bei 37° in den Wärmeschrank gestellt; in vielen Fällen kam die Oxydation auch ganz energisch in der Kälte zustande.

Sehr wirksam zeigten sich das Platin, das Mangan, das Silber, das Collargol und das Hyrgol, weniger das Gold, noch weniger das Wismut; die beiden Sorten Arsensulfid und das Kalomel waren inaktiv. Das Eisenhydrat gibt mit dem Guajacharz und dem Wasserstoffsuperoxyd ein Präcipitat, das im Wärmeschrank sehr langsam bläulichgrün wird.

Direkt oxydierende Wirkung.

Diese wurde in folgender Weise bestimmt:

Zu 5 ccm der zu oxydierenden Substanz wurden 10 Tropfen des Kolloids getan, und dann wurde das Röhrchen in den Wärmeschrank bei 37° gestellt.

Der Oxydationsgrad wurde nach der Intensität der Farbe, welche die Lösung annahm, beurteilt. Als Vergleichsmuster füllten wir eine Serie von Röhrchen mit 5 ccm der zu oxydierenden Substanz, das Kolloid ließen wir weg. Am Ende des Versuches wurden kalt in jede der Kontrolltuben 10 Tropfen des betr. Kolloids gegossen, um sie mit der entsprechenden im Wärmeschrank gewesenen Tube zu vergleichen. Man mußte den Kontrolltuben das Kolloid zusetzen, um die Farben vergleichen zu können, denn viele der Kolloide hatten eine Eigenfärbung.

Wir wählten folgende Substanzen zur Oxydation: Hydrochinon (1 °/₀), Guajacharz in alkoholischer Lösung, Pyrogallol (2 °/₀), Paraphenylendiamin (0,05 °/₀) und Tyrosin (gesättigte Lösung).

Hier kurz die Resultate:

Die Oxydation des Hydrochinons wird gesteigert vom kolloidalen Platin, Gold und Silber, weniger vom Hyrgol, gar nicht von Mangan, Collargol, Eisenhydrat, Kalomel und Wismut.

Die Oxydation des Guajacharzes wird gesteigert vom Platin, Gold, Silber, Mangan, Hyrgol und Collargol; das Kalomel, Wismut und Eisenhydrat wirken nicht.

Die Oxydation des Pyrogallols wird nur vom kolloidalen Platin erhöht, die andern Kolloide wirken nicht.

Die Oxydation des Paraphenylendiamins wird von folgenden, nach ihrer Wirkung geordneten Kolloiden beschleunigt: Platin, Gold, Mangan, Silber, Collargol (sehr wenig), die andern wirken nicht.

Die Oxydation des Tyrosins wird von keinem der verwendeten Kolloide beschleunigt.

Das Schwefelarsen hemmt die spontane Oxydation der von uns verwendeten Substanzen.

Oxydierende Wirkung in Gegenwart von Oxydasen.

Nachdem wir die direkt oxydierende Wirkung festgestellt hatten, wollten wir weiter sehen, ob unsere Kolloide fähig sind, die Wirkung der oxydierenden zu steigern. Als zu oxydierende Substanzen nahmen wir die schon genannten, und als Oxydasen wählten wir die Laccase und die Tyrosinase. [1])

Erstere hat das Aussehen eines weißen im Wasser leicht löslichen Pulvers, die zweite ist ein glycerinhaltiger Infus von Schwämmen der Russulagattung.

Die Laccase wirkt auf das Guajacol, das Guajacharz, das Paraphenylendiamin, das Pyrogallol und das Hydrochinon; das Tyrosin wird nicht beeinflußt. Die Tyrosinase wirkt nur auf das Tyrosin. Das Guajacol und das Guajacharz sind aber zu qualitativen Untersuchungen des Oxydationsgrades, der allein auf der von der Lösung angenommenen Farbe beruht, nicht geeignet; denn das erstere nimmt anfänglich eine rote Farbe an, in den tiefer gelegenen, mit der Luft nicht in Berührung kommenden Schichten verliert sich diese Färbung wieder, um sich dann wieder einzustellen, wie die Tatsache zeigt, daß diese Schichten durch Schütteln bei Luftzutritt wieder rot werden. Das Guajacharz hingegen entfärbt sich, nachdem es blau geworden ist, und zeigt vorgeschrittenere farblose Oxydationsprodukte. Die andern Substanzen hingegen dienten unserem Zwecke sehr gut, weil die Intensität

---

[1]) Wir verdanken der Freundlichkeit des Herrn Prof. G. Bertrand vom Institut Pasteur in Paris beide Oxydasen und sprechen ihm unsern verbindlichsten Dank aus.

der von ihnen angenommenen Farbe in gleichem Maße zunimmt, als die Oxydation fortschreitet.

Der Versuch wurde auf folgende Weise ausgeführt. In 5 ccm der zu oxydierenden Lösung wurden gleichzeitig 10 Tropfen Oxydase und 10 Tropfen Kolloid hinzugesetzt; dann wurden die Röhrchen in den Wärmeschrank bei 37° gesetzt. Gleichzeitig wurden ebensoviele Röhrchen mit 5 ccm der zu oxydierenden Lösung und 10 Tropfen Oxydase in den Wärmeschrank gestellt.

Nach einigen Stunden wurde jede Tube der ersten Serie mit einer Tube der zweiten, der gleichzeitig noch 10 Tropfen Kolloid zugegossen worden waren, verglichen. Einige gleichartige Versuche, die an den einzelnen Substanzen ausgeführt wurden, ergaben folgende Resultate:

Kein Kolloid steigert die Wirkung der Laccase auf das Hydrochinon. Die Wirkung der Laccase auf das Pyrogallol wird nur vom Platin erhöht, auf das Paraphenylendiamin vom Platin und Gold, in geringerem Grade von Silber und Mangan. Die Oxydation des Tyrosins mit Hilfe der Tyrosinase wird von den folgenden Kolloiden, die wir je nach dem Grade ihrer Wirkung anführen, gesteigert: Platin, Silber, Mangan, Collargol.

Die andern wirken nicht. Das Arsensulfid verhindert die Wirkung der Oxydasen. Was das Arsensulfid anbelangt, müssen wir immer daran erinnern, wie Iscovesco gefunden hat, daß obgleich es an sich geringe katalytische Wirkung auf das Wasserstoffsuperoxyd hat, es doch die Wirkung der Leberkatalyse verhindert.

Vielleicht wird die hemmende Wirkung des kolloidalen Arsensulfids durch einen kleinen Teil nicht in Sulfid umgewandelter arseniger Säure hervorgerufen, und es ist bekannt, daß diese schon bei einer Konzentration von 1 auf 500000 die Oxydation des Pyrogallols verhindert (Trillat).

Zusammenfassung.

Nicht alle unsere Kolloide haben direkt oxydierende Wirkung und jene, die sie haben, machen sie nicht bei allen erprobt oxydierbaren Substanzen geltend. Das Eisenhydrat, das Wismut und das Kalomelol ermangeln der direkt oxydierenden Wirkung auf alle Substanzen und erhöhen die

Wirkung der Oxydasen nicht. Das kolloidale Arsensulfid verhindert die direkte Oxydation und jene durch die Oxydasen hervorgerufene.

Das kolloidale Platin oxydiert direkt das Pyrogallol, das Paraphenylendiamin, das Guajacharz und das Hydrochinon; auf das Tyrosin wirkt es nicht direkt. Das Silber und das Gold oxydieren direkt das Guajacharz und das Paraphenylendiamin; sie beeinflussen nicht das Pyrogallol, das Hydrochinon und das Tyrosin.

Das Collargol und das Mangan oxydieren nur das Guajacharz und das Paraphenylendiamin, das Hyrgol nur das Guajacharz und in geringerem Maße das Hydrochinon.

Auf das Tyrosin wirkt kein Kolloid direkt; das Platin, das Silber, das Mangan, das Gold und das Collargol erhöhen die Wirkung der Tyrosinase. Es gibt also Fälle, in welchen das Kolloid, das Eigenwirkung hat, auch die Wirkung der Oxydasen steigert. (Beispiel: Platin auf Pyrogallol, Platin, Gold, Silber und Mangan auf das Paraphenylendiamin.) In andern Fällen wirkt das Kolloid selbst nicht, sondern erhöht die Wirkung der Oxydasen. (Beispiel: Platin, Silber, Mangan, Gold und Collargol auf das Tyrosin). Endlich gibt es auch Kolloide, welche Eigenwirkung haben, aber die Wirkung der Oxydasen nicht erhöhen. (Beispiel: Platin, Gold, Silber auf das Hydrochinon, Collargol, wenn auch in geringerem Maße, auf das Paraphenilendiamin).

Aus unseren Versuchen über das Mangan geht hervor, daß, während einige Mangansalze und besonders die Salze der schwachen Säuren (Milchsäure, Citronensäure) starke, direkt oxydierende Wirkung auf viele Phenole haben, das kolloidale elektrische Mangan nur schwach und nur auf das Guajacharz und das Paraphenylendiamin wirkt. Es ist bekannt, wie Bertrand die oxydierende Wirkung der Magansalze der Hydrolyse, der sie unterworfen sind, zuschreibt nach folgender Gleichung:

$$RMn + H_2O = RH_2 + MnO.$$

Das Manganoxyd würde sich dann mit den Sauerstoffmolekülen in Dioxyd verwandeln und dabei aktiven Sauerstoff in Freiheit setzen, nach der Gleichung

$$MnO + O_2 = MnO_2 + O,$$

und andererseits würde sich das Mangansalz wiederherstellen, indem es neuen Sauerstoff aus dem Dioxyd in Freiheit setzt nach der Gleichung:

$$RH_2 + MnO_2 = RMn + O + H_2O.$$

Nun verlangt aber dieser Vorgang, daß das Mangan sich in Form eines leicht hydrolysierbaren Salzes vorfindet. Beim kolloidalen, metallischen Magan ist dies nun nicht der Fall, und das erklärt seine geringere oxydierende Wirkung. Die Behauptung Trillats,[1]) daß das Mangan sich im kolloidalen Zustande befinden müsse, um stärker zu oxydieren, erscheint uns darum nicht beachtenswert. In den Verbindungen, die Trillat durch Mischen eines Mangansalzes mit einem Alkali in Gegenwart von Albumin, welches das Ausfällen verhindern sollte, erhielt, war vielleicht noch etwas Salz im nichtkolloidalen Zustande vorhanden, welches dann dadurch, daß es hydrolisierte, oxydierend wirkte.

Wie ist es zu erklären, daß das Platin und andere Kolloide keinen direkten Einfluß auf das Tyrosin haben und die Wirkung der Tyrosinase erhöhen?

Wir suchten diese Frage dadurch zu lösen, daß wir die Tyrosinase und das Platin dem Tyrosin zu verschiedenen Zeiten zusetzten. In einer Serie von Versuchen brachten wir in Tuben je eine Mischung von 5 ccm gesättigter Tyrosinlösung und 10 Tropfen Tyrosinase. Die erste Tube blieb unverändert als Probe. In die zweite wurden sofort 10 Tropfen kolloidales Platin gegossen, in die dritte kam diese Quantität erst nach $^1/_2$ Stunde, in die vierte nach 2, in die fünfte nach 3, in die sechste nach 7 und in die siebente nach 12 Stunden.

Die Tuben waren alle in den Wärmeschrank gestellt worden und wurden 20 Stunden nach dem Augenblick, in dem das Platin zugesetzt worden war, wieder herausgenommen. Auf diese Weise machten wir den Fehler, die letzten Tuben länger im Wärmeschranke gelassen zu haben; wir werden jedoch sehen, daß dies nicht in Betracht zu ziehen war, denn wir fanden, daß die Oxydation in den ersteren weiter vorgeschritten war, obgleich sie weniger Zeit im Wärmeschranke gewesen waren.

In einer zweiten Serie von Versuchen füllten wir 7 Tuben mit einer Mischung von 5 ccm Tyrosin und 10 Tropfen Platin;

---

[1]) Trillat, Compt. rend. 1904, 274.

die Tyrosinase wurde in den gleichen Zeitabständen und in der gleichen Reihenfolge wie bei dem vorhergehenden Versuche hinzugegossen. Diese Versuche ergaben folgendes:

Wenn das Platin gleichzeitig mit der Tyrosinase und dem Tyrosin vereinigt wird oder $^1/_2$ Stunde nach dieser, dann kommt die Oxydation viel energischer zustande, als wenn kein Platin gegenwärtig ist. Wenn dieses 2 oder 3 Stunden später hinzutritt, bleibt es ohne Wirkung und die Oxydation vollzieht sich wie in der Tube, in welche kein Platin kam. Wenn man hingegen Tyrosin und Platin vermischt und dann in Zeitabständen Tyrosinase zusetzt, dann ist für die gleiche Wirkungsdauer die Oxydation gleich. Für diese Erscheinung können wir folgende Erklärung versuchen: Die Tyrosinase geht mit dem Tyrosin Verbindungen ein, welche eine bestimmte Zeit beanspruchen (ca. 3 Stunden). Das Platin beeinflußt das Tyrosin nicht, aber es wirkt auf die Tyrosinase und bringt energischer oxydierende Verbindungen zustande.

Wenn es daher zugesetzt wird, solange noch ein wenig freie Tyrosinase vorhanden ist, kann es deren oxydierende Wirkung erhöhen; wenn es aber erst nach 3 Stunden zugesetzt wird, findet es die Tyrosinase schon an das Tyrosin gebunden und wirkt nicht mehr. Zur Bekräftigung dieser Hypothese diente die zweite Serie von Versuchen. Diese zeigen, daß das Platin mit dem Tyrosin keine Verbindung eingeht, und daß die Oxydation erst in dem Augenblick einsetzt, in welchem man die Tyrosinase hinzufügt, die das Platin noch 12 Stunden, nachdem es mit dem Tyrosin vermischt worden war, frei antrifft und mit ihm jene Verbindungen eingeht, die die oxydierende Wirkung erhöhen.

Nachdem wir so gefunden hatten, daß einige kolloidale Metalle fähig sind, einige Substanzen katalytisch zu oxydieren und die Wirkung der Oxydasen zu erhöhen, übertrugen wir unsere Untersuchungen auf einige Prozesse, welche im Organismus sich vollziehen, und beabsichtigten festzustellen, ob das Steigen der Temperatur, das die kolloidalen Metalle verursachen, nicht der Einwirkung einiger Erscheinungen, die im unmittelbaren Zusammenhang mit der tierischen Wärme sind, zugeschrieben werden kann und begannen mit der Untersuchung der respiratorischen Kraft der Gewebe.

Kolloidale Metalle und respiratorische Kraft der Gewebe.

Über die respiratorische Aktion der Gewebe wurden in letzter Zeit von Battelli und Stern[1]) Untersuchungen angestellt. Sie stellten die Hauptbedingungen für dieses Studium fest und untersuchten, welche Wirkung verschiedene Substanzen auf diese respiratorische Tätigkeit haben. In gleichem Sinne, wenn auch nach etwas anderer Methode, arbeiteten Lussana[2]) und Fletscher[3]). Auf diese Arbeiten verweisen wir den Leser für das, was die Theorie der Respiration der aus dem Organismus isolierten Gewebe und die Bedingungen, unter welchen diese sich vollzieht, betrifft.

Um die respiratorische Kraft der Gewebe direkt zu messen, benützten einige Autoren ganze Organe, andere auch Brei dieser Organe. So machte Lussana seine Versuche an Stücken Leber oder an Muskeln eines Frosches. Er tat sie in ein verschlossenes Gefäß und wog am Ende des Versuches die ganze Luft des Rezipienten. Er fand so die Quantität der abgegebenen Kohlensäure und des restlichen Sauerstoffes. Er berechnete die Menge des absorbierten Sauerstoffes aus dem Stickstoff, welcher nach der Analyse verblieb. Battelli und Stern hingegen taten den Brei, in Blut oder irgend einer andern Flüssigkeit suspendiert, in ein tariertes Gefäß, und bestimmten die Kohlensäure und den Sauerstoff durch Absorption, durch Kalilauge resp. mit Phosphor. Als sie reinen Sauerstoff benützten und den Rezipienten mittels einer T-Röhre, mit einer als Wassermanometer funktionierenden Hempelschen Bürette in Verbindung brachten und damit das Gas des Rezipienten unter atmosphärischen Druck setzten, war es möglich, von Anfang bis zum Schluß des Versuches festzustellen, wieviel das Gas an Volumen eingebüßt hatte.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir in physiologischer Kochsalzlösung suspendierte Organbreie. Zwei Flaschen wurden

---

[1]) Battelli u. Stern, Journ. de Physiol. u. Pathol. gén. 1907, 1; Battelli u. Stern, Ibid. 1907, 228; Battelli u. Stern, Arch. Int. de Physiol. 1907, 465.

[2]) Lussana, Arch. di Fisiologia 1905, 445, e Boll. d. Sc. Med. di Bologna 1907.

[3]) Fletscher, Journ. of Physiol. 23, 10.

mit einem Gummipfropfen, der von einem Glashahn durchbohrt war, verschlossen und durch Wägen genau tariert, dadurch daß man sie bis zum Verschluß des Hahns mit Wasser füllte. Das auf diese Weise festgestellte Volumen der beiden Flaschen war 493,3 resp. 519 ccm. Es wurden dann in zwei Kapseln gleiche Quantitäten gut vermischten Breies des Organs gewogen; jede wurde dann mit physiologischer Lösung auf ein bestimmtes Volumen gebracht und dann in die entsprechende Flasche getan, Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß möglichst genau gewogen wurde und keine Substanz verloren ging. Da uns das Volumen des leeren Rezipienten und das der eingeführten Flüssigkeit bekannt war, kannten wir auch das Volumen der Luft. Der Hahn wurde geschlossen und Hahn und Pfropfen an die Flaschen gebunden, dann wurden diese gleichzeitig in einen weiten Wasserwärmeschrank bei 38 bis 40° getan und auf einen durch eine Wasserturbine bewegten Schwinghebel gestellt und heftiger Erschütterung ausgesetzt. Nach einer bestimmten Anzahl von Stunden wurden sie wieder herausgenommen, und nachdem sie kalt geworden waren, wurde zur Analyse der zurückgebliebenen Luft übergegangen. Es wurde eine Probe mittels einer Hempelschen Quecksilberpipette entnommen.

Die Analyse wurde mit dem Grandisschen[1]) Apparat, der die genauesten Resultate gibt, vorgenommen und auf das Anfangsvolumen der in den Flaschen enthaltenen Luft reduziert. Wenn es auch scheinen könnte, daß das Messen der Luft dadurch, daß man das Volumen des einzuführenden Breies mißt, nicht sehr genau gelungen wäre, haben Kontrollversuche, die in der Weise gemacht wurden, daß man in die zwei Flaschen dasselbe Quantum Brei desselben Organs im Kontakt mit demselben Quantum Luft tat, erwiesen, daß diese Methode genügend genaue Resultate ergibt und daß ein kleiner Irrtum im Messen des Volumens des eingeführten Breies keinen in Betracht zu ziehenden Einfluß auf das endliche Bestimmen des Gases hat, vorausgesetzt, daß die Quantität Luft, mit welcher experimentiert wird, genügend groß ist.

---

[1]) Grandis, Description d'un crisiotonomètre (Arch. ital. de Biol. 39, 325).

Zum Beweise dessen wollen wir über unsere Versuche berichten:

Versuch 1.

In die Flaschen a, resp. b werden 50 g gut gemischter Brei von Kaninchenmuskeln getan und mit physiologischer Lösung auf 150 ccm gebracht. Man schüttelt sie während 3 Stunden bei 38°, nach deren Verlauf findet man:

Absorbierten Sauerstoff	Flasche	a	13,6 ccm
	„	b	13,3 „
CO_2 abgegeben	Flasche	a	12,9 ccm
	„	b	13,2 „

Versuch 2.

Ist gleich wie der vorhergehende, aber es werden 50 g Brei gut vermischter Hundeleber genommen. Nach 4stündiger Bewegung bei 38° findet man:

Sauerstoff absorbiert	Flasche	a	16,2 ccm
	„	b	15,9 „
CO_2 abgegeben	Flasche	a	13,6 ccm
	„	b	14,1 „

Nachdem wir so gefunden hatten, daß die Methode brauchbar war und wir beinahe die ziemlich eng gezogene Fehlergrenze kannten, machten wir mit kolloidalem Silber und Platin Versuche über die respiratorische Tätigkeit der Gewebe.

Die Silberlösung war immer dieselbe: 0,30‰ Silber und stabilisiert. Die stabilisierte Platinlösung enthielt 0,28‰ Platin. Auf der Tabelle sind die Ergebnisse der Versuche angegeben.

Aus diesen Versuchen folgt, daß das kolloidale Silber, wenn es dem Brei von einem Gewebe direkt zugefügt wird, beinahe gar nicht auf die Respiration des Gewebes selbst wirkt. Manchmal nimmt die Quantität des absorbierten Sauerstoffes nur wenig zu, manchmal die der abgegebenen Kohlensäure, und manchmal nimmt die eine oder die andere, oder beide dieser Quantitäten ab, aber immer nur sehr wenig. Nur einmal kam es vor, daß das Silber die respiratorische Kraft der Hundeleber sehr vermindert (Vers. 7). Kleine Mengen Silber haben eher Neigung den Gasaustausch zu steigern (Vers. 3, 6, 7, Ausnahme Vers. 11), während größere Mengen ihn hemmen (Vers. 4, 5, 9).

Große Mengen Platin (Vers. 12) setzten den Gasaustausch sehr herab, während eine 10mal geringere Konzentration (Vers. 13) keinen nennenswerten Einfluß hatte. Jedenfalls steht fest, daß es die respiratorische Tätigkeit der Muskeln nicht erhöht.

Nachdem wir diese negativen Resultate erhalten hatten, wollten wir nach einer andern Methode experimentieren, d. h. wir wollten untersuchen, ob die Muskeln eines Tieres, dem kolloidales Silber in das Blut eingespritzt worden war, lebhafter respirierten als die eines normalen.

Wir machten die Versuche an Kaninchen und versicherten uns erst durch zwei Versuche, daß zwei gleiche Quantitäten Muskelbrei, der von zwei beinahe gleichaltrigen und gleichrassigen Kaninchen genommen wurden, die gleiche respiratorische Kraft besitzen.

Versuch 14.

Von zwei jungen, weißen Kaninchen werden je 50 g Muskelbrei hergestellt. Mit physiologischer Lösung wurde das Volumen der Mischung auf 150 ccm gebracht. Wir setzten die beiden Flaschen einer 3stündigen Bewegung bei 39° aus und fanden nach deren Verlauf:

	Sauerstoff absorbiert	Kohlensäure abgegeben
Flasche a	19,09	18,51
„ b	17,65	17,23
Differenz	1,44	1,28

Versuch 15.

Ist gleich wie der vorhergehende und wird mit Muskeln zweier anderer Kaninchen gemacht. Man schüttelt bei 39° $1^1/_2$ Stunden lang.

	O_2 absorbiert	CO_2 abgegeben
Flasche a	15,91	14,33
„ b	16,01	13,03
Differenz a—b	— 0,10	+ 1,30

Nachdem wir so gefunden hatten, daß die Differenzen zwischen der respiratorischen Kraft zweier normaler Kaninchen unter denselben Bedingungen nicht groß sind und uns deren Grenzen ziemlich genau bekannt waren, machten wir einen Versuch, bei welchem wir die respiratorische Kraft zweier Kaninchenmuskeln, deren einem in die Auricularvene 30 ccm kolloidales Silber gespritzt worden waren, verglichen. Der Kürze wegen werden wir letzteres Kaninchen Ag. nennen.

Versuch 16.

Es werden 50 g Muskelbrei eines normalen Kaninchens genommen und 50 g eines solchen von gleichem Gewicht, dem aber 1 Stunde vorher 30 ccm Silber in die Auricularvene eingespritzt worden waren. Das Ganze wird einer Bewegung bei 39° ausgesetzt. Volumen der Mischung je 150 ccm.

	O_2 absorbiert	CO_2 abgegeben
Normales Kaninchen a	16,12	16,12
Kaninchen Ag. b	14,99	15,00
Differenz a—b	1,13	1,12

Nummern der Versuche	Gewebe	Gramm	Volumen der Lösung ccm	Hinzugesetzte Flüssigkeit ccm	Bewegungsdauer Stunden	Temperatur	O_2 absorbiert ccm	CO_2 abgegeben ccm	O_2 absorbiert vom Kolloidgewebe im Vergleich zum normalen	CO_2 abgegeben vom Kolloidgewebe im Vergleich zum normalen
3.	Kaninchenmuskeln	50 50	155 155	5 H_2O 5 Ag	2	39°	7,95 8,91	20,67 22,31	+ 0,96	+ 1,64
4.	id.	50 50	165 165	15 H_2O 15 Ag	2	39°	16,60 14,48	10,57 11,88	— 2,12	+ 1,31
5.	id.	50 50	165 165	15 H_2O 15 Ag	3	38°	15,23 11,50	13,47 10,13	— 3,73	— 3,34
6.	id.	50 50	150 150	1 H_2O 1 Ag	2,30′	Bei Beginn des Versuchs 22°, steigt während des Vers. bis 40°.	7,78 11,66	8,63 9,79	+ 3,82	+ 1,16
7.	id.	50 50	151 151	1 H_2O 1 Ag	3	38°	12,25 12,03	11,92 13,55	— 0,22	+ 1,13
8.	Hundenieren	18 18	100 100	5 H_2O 5 Ag	4	38°	45,97 48,85	36,39 38,89	+ 2,88	+ 2,50
9.	Leber eines verbluteten Hundes	50 50	160 160	10 H_2O 10 Ag	2	39°	47,04 30,87	30,37 17,88	+ 16,17	— 12,49
10.	Leber eines seit 2 Stunden toten Hundes (mit Blut)	50 50	121 121	1 H_2O 1 Ag	3	39°	18,77 19,49	15,22 16,27	— 0,72	+ 1,05
11.	Hundeleber (verblutet)	50 50	121 121	1 H_2O 1 Ag	3,30′	Steigt während des Versuchs von 34° auf 40°	34,72 30,73	26,27 23,23	— 3,99	— 3,04
12.	Kaninchenmuskeln	50 50	151 151	10 H_2O 10 Pt	5,30′	39°	42,58 36,72	40,89 34,78	— 5,86	— 6,11
13.	id.	50 50	151 151	1 H_2O 1 Pt	2	39°	10,40 10,97	9,17 11,14	+ 0,57	+ 1,97

Dieser Versuch zeigt, daß eine Einspritzung kolloidalen Silbers die respiratorische Kraft der Muskeln nicht steigert, sondern sie im Gegenteil um ein Geringes vermindert, was jedoch in den Versuchsfehlergrenzen liegt. Es ist zu beachten, daß im Augenblick, in welchem das Kaninchen geschlachtet wurde, die Körpertemperatur nicht gestiegen war.

Battelli und Stern zeigten, daß die Kaninchenmuskeln an und für sich schon eine geringe respiratorische Kraft besitzen, und daß diese, dadurch daß man das wässerige Extrakt von Hundemuskeln hinzusetzt, sehr gesteigert werden kann. Dieses Extrakt hat an und für sich keine respiratorische Kraft, ebensowenig der Brei, der davon zurückblieb; wird aber der Brei mit dem Extrakte vereint, dann respirieren beide zusammen aktiv und das Extrakt ist fähig, die respiratorische Kraft der Muskeln anderer Tiere sehr zu steigern. Es war interessant, zu untersuchen, ob die von dem wässerigen Extrakt der Hundemuskeln ausgeübte Wirkung vom kolloidalen Silber nicht erhöht oder ersetzt werden könnte. Wir untersuchten seine Wirkung auf die Respiration der Kaninchenmuskeln, nachdem das wässerige Extrakt von Hundemuskeln hinzugesetzt worden war.

Versuch 17.

Flasche a: 50 g Kaninchenmuskeln werden mit frischem, wässerigem und durch Hundemuskeln filtrierten Extrakt auf 150 ccm gebracht (300 g Wasser + 200 g Muskeln). Flasche b: Dieselbe Mischung + 5 ccm kolloidales Silber. Nach 3stündiger Bewegung bei 39° findet man:

	O_2 absorbiert	CO_2 abgegeben
Flasche a	43,35	44,99
„ b	40,55	41,33
Differenz	2,80	3,66

Das Silber hat also den Gasaustausch, den das wässerige Extrakt von Hundemuskeln erhöht hatte, herabgesetzt.

Versuch 18.

Die Muskeln eines kaum geschlachteten und verbluteten Hundes werden mit der Maschine klein zerhackt, und dann wird davon ein doppelter wässeriger Extrakt hergestellt. Der Rückstand wird sodann durch feine Leinwand gequetscht und das wässerige Extrakt so abgesondert; dieses stellt man sodann auf Eis. Inzwischen werden 50 g des hergestellten und getrockneten Breies mit physiologischen Lösung und 10 ccm Wasser auf 185 ccm gebracht. In die Flasche b kommen an Stelle der 10 ccm Wasser 10 ccm kolloidales Silber. Nach 3stündiger Bewegung bei 36° findet man:

	O_2 absorbiert	CO_2 abgegeben
Flasche a	4,77	4,17
„ b	8,30	6,34
Differenz b—a	3,53	2,17

Nachdem das wässerige Extrakt während 4 Stunden auf dem Eis gewesen war, werden davon in die Flasche a 150 ccm + 10 ccm Wasser und in die Flasche b dieselbe Quantität + 10 ccm kolloidales Silber getan. Nach 4stündiger Bewegung bei 39° bemerkt man in beiden Flaschen reichliche Flocken präzipitierten Albumins, die sicher nicht durch Wärmekoagulation entstanden sind. Bei der Analyse findet man:

	O_2 absorbiert	CO_2 abgegeben
Flasche a	14,66	16,83
„ b	15,18	14,63
Differenz a—b	— 0,52	+ 2,20

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß während das kolloidale Silber die respiratorische Kraft des aus den Hundemuskeln hergestellten Breies ein wenig erhöht hat, es die Quantität der abgegebenen Kohlensäure des wässerigen Extraktes steigert und die Quantität des absorbierten Sauerstoffes ein wenig vermindert.

Schlußfolgerung: Kleine Mengen kolloidalen Silbers haben weder große Wirkung auf die respiratorische Kraft der Muskeln, noch auf die der Leber, wenn auch im allgemeinen Neigung besteht, den Gasaustausch um ein Geringes zu steigern. In stärkerer Konzentration vermindern die beiden Kolloide die respiratorische Kraft der Gewebe. Die bis jetzt berichteten Versuche berechtigen uns nicht, zu behaupten, das auf eine Einspritzung kolloidalen Silbers folgende Steigen der Temperatur des Tieres werde durch einen aktiven respiratorischen Austausch der Gewebe hervorgerufen, und diese Folgerung stimmt mit dem Befund von M. Ascoli und Izar überein, nämlich, daß das Steigen der Temperatur, das sich beim Menschen unter dem Einflusse der kolloidalen Metalle einstellt, nicht gleichen Schritt hält mit den Veränderungen des von ihnen näher untersuchten Stickstoffaustausches. Wenn man andererseits in Betracht zieht, daß die respiratorische und oxydierende Kraft der Gewebe als voneinander ganz unabhängige Phänomene betrachtet werden, wird es einen nicht in Erstaunen setzen, einen Widerspruch zwischen den Versuchen in vitro über die oxydierende Wirkung der kolloidalen Metalle und jenen über die respiratorische Kraft der Gewebe zu finden.

Über die mikrobentötende und antitoxische Wirkung des kolloidalen Silbers.

Die häufige Verwendung der kolloidalen Metalle in den letzten Jahren zu therapeutischen Zwecken bewog uns, ihre Wirkung auf die Mikroben und die Toxine experimentell zu erproben.

Über die bakterientötende Wirkung des Collargols existieren nicht viele Arbeiten, und die, welche vorhanden sind, widersprechen sich. Schloßmann[1]) fand, daß das Collargol den Staphylococcus, das Bacterium coli und die Diphteriebacillen tötet.

Baldoni[2]) fand, daß das 1%ige Collargol in ½ Stunde den Staphylococcus und den Streptococcus tötet. Brunner[3]) experimentierte mit viel größerer Genauigkeit und fand, daß es fähig ist, die Entwicklung der Bakterien zu lähmen, daß aber seine mikrobentötende Wirkung ziemlich gering ist.

Zu den gleichen Ergebnissen führten die genauen Untersuchungen Cohns[4]), der über den Streptococcus, Staphylococcus aureus, die Diphtheriebacillen und Milzbrandbacillen ohne Sporen Versuche machte. Die Untersuchungen über die therapeutische Wirkung des Collargols bei experimentellen Infektionen führten zu ganz und gar negativen Resultaten. Beyer[5]) berichtet über 2 Versuche, bei welchen es gelungen sein soll, ein Kaninchen von der Staphylokokkeninfektion zu heilen, aber diese Versuche sind nicht überzeugend, weil er kein Kontrollkaninchen hielt. Brunner (loc. cit.) hatte ganz und gar negative Resultate bei der Staphylokokkeninfektion des Kaninchens, und Cohn (loc. cit.) fand die Einspritzungen oder Einreibungen mit Collargolsalbe bei der künstlich herbeigeführten Streptokokken-, Staphylokokken-, Cholera- und Milzbrandinfektion ohne Wirkung, ja sogar manchmal schädlich. Der Autor schreibt diese negativen Ergebnisse dem Umstande zu, daß das Collargol nicht auf-

---

[1]) Schloßmann, Therap. Monatsh., Mai 1899.

[2]) Baldoni, La Clinica Veterinaria di Milano, Oktober 1899.

[3]) Brunner, Fortschritte d. Med. 18, 81, 1900.

[4]) Cohn, Über den antiseptischen Wert des Argentums Colloidale Credé und seine Wirkung bei Infektionen. Centralbl. f. Bakt. 22, 732 u. 804, 1902.

[5]) Beyer, Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 8.

gelöst im Blut zirkuliert, sondern in den Organen präzipitiert und sich als winzige, schwarze, metallische Silberkörnchen ausscheidet.

Über die mikrobentötende Wirkung des kolloidalen Platins, Palladiums, Goldes und der andern Metalle sind keine Versuche gemacht worden, wenigstens unseres Wissens nicht.

Über die bakterientötende Wirkung des kolloidalen nach der Bredigschen Methode hergestellten Silbers stellten Cernovodeanu und Henri[1]) Untersuchungen an. Sie fanden, daß die olivgrüne Sorte beinahe keine Wirkung auf die Bakterien hat, während die rotbraune kleinkörnige Art die Entwicklung des Bacteriums Pyocyaneum, des Streptococcus, der Milzbrand-, Dysenterie- und Typhusbakterien verhindert. Das Bacterium coli ist widerstandsfähiger. Chirié und Monnier-Vinard[2]) fanden, daß dasselbe Silber die Entwicklung des Pneumococcus verhindert. Diese Autoren sagen nicht, ob das Silber, außer daß es die Entwicklung der Bakterien verhindert, auch dieselben zu töten fähig ist.

Über die Wirkung des kolloidalen, elektrischen Silbers auf die experimentell herbeigeführten Infektionen sind uns nur die Versuche von Chirié und Monnier-Vinard (loc. cit.) bekannt. Diese fanden, daß bei der Pneumokokkeninfektion der Ratten und Mäuse das Silber keine heilende Wirkung hat, außer bei den leichten Infektionen.

Wir sprachen bis jetzt von der bakterientötenden Wirkung der kolloidalen Metalle; über ihre antitoxische Wirkung kennen wir nur die Arbeit von Hamburger[3]). Dieser untersuchte, ob das Collargol die Fähigkeit besitzt, das Staphylolysin zu oxydieren. Er fand, daß mit $^1/_4$ ccm Collargol von $1^0/_0 + 1$ ccm Staphylolysin keine Hämolyse hervorgerufen wird, während kleinere Dosen Collargol fähig sind, die Hämolyse zu steigern. Dazu müssen wir bemerken, daß die Hämolyse uns kein gut gewähltes Phänomen für Untersuchungen über die Wirkung des Collargols auf das Staphylolysin scheint, weil zwischen Collargol, Lysin und dem Serum kolloidale Verbindungen zustande kommen, welche die Erklärung der Resultate, was die Hämolyse anbelangt,

[1]) Cernovodeanu und Henri, C. R. Soc. Biol. **1906**, 120 u. 122.

[2]) Chirié und Monnier-Vinard, C. R. Soc. Biol. **1906**, 673.

[3]) Hamburger, Arch. int. de Physiol. **1**, 145.

sehr erschweren, da diese sehr variieren kann, je nachdem die verschiedenen Reaktiven den roten Blutkörperchen zugefügt werden (s. Cernovodeanu und Henri)[1]).

Wir teilten unsere Beobachtungen in 2 Kategorien ein. Einerseits untersuchten wir, welche Wirkung die Kolloide in vitro auf die Bakterien haben, andererseits, welche Wirkung die Kolloide auf den Fortschritt der Bakterieninfektionen bei Tieren haben, und ob sie auf die Bakterientoxine wirken oder nicht.

Sind die von uns untersuchten Kolloide fähig, die Entwicklung der Bakterien zu verhindern? Sind sie fähig, die schon entwickelten Bakterien zu töten?

Um die erste Aufgabe zu lösen, fügten wir einer bestimmten Quantität Fleischbrühkultur ansteigende Dosen der verschiedenen Kolloide bei und säten dann die Mikroorganismen hinein. Um die mikrobentötende Kraft festzustellen, taten wir in eine schon entwickelte Kultur die ansteigenden Dosen der Kolloide, und von Stunde zu Stunde fügten wir 1 oder 2 Platinösen dieser Kultur einer Tube mit steriler Fleischbrühe hinzu. Auf diese Weise hätten wir beobachten können, von welcher Dosis und in welcher Zeit die Mikroben getötet worden wären. Wir müssen bemerken, daß viele der von uns verwendeten Kolloide sofort oder wenige Stunden, nachdem sie der Fleischbrühe zugesetzt worden waren, präzipitierten. Wenn kleine Dosen Kolloid zugesetzt wurden, war dies jedoch nicht der Fall (z. B. 10 Tropfen auf 5 ccm Fleischbrühe), sowie aber die Dose Kolloid größer war, gab es eine Fällung. Damit sich das Metall nicht als ein wirkungsloses Pulver, das sicherlich seiner mikrobentötenden Wirkung verlustig gegangen wäre, absetzte, mußten wir das instabile Kolloid mit einer großen Quantität stabilen Kolloids, z. B. Blutserum oder arabischem Gummi, stabilisieren. Der Bequemlichkeit wegen wählten wir letzteres. Dieses enthält jedoch immer Keime von Schimmelpilzen und diese widerstehen der Wirkung des Kolloids kräftig; solange das Kolloid sehr konzentriert ist, wachsen sie nicht, aber sobald es verdünnt wird, entwickeln sie sich, also sind sie gelähmt, aber nicht getötet gewesen; während die Krankheitserreger, wie wir

---

[1]) Cernovodeanu und Henri, Recherches sur l'hémolyse. C. R. Soc. Biol. 1905).

sehen werden, der Wirkung des Kolloids viel weniger Widerstand leisten. Um das Gedeihen der Schimmelpilze, das die Ergebnisse verschleiert hätte, zu verhüten, ließen wir das stabilisierte Kolloid, bevor wir es in Gebrauch nahmen, 2mal in einem Zeitabstand von 24 Stunden während $^1/_4$ Stunde kochen.

Wir machten mit folgenden Mikroben Versuche:

Staphylococcus, Pyogenes aureus, Streptococcus, Pest-, Diphtherie-, Cholerabakterien, Bacterium coli, Typhusbakterien, Pyocyaneus, Dysenteriebakterien, Pneumococcus, Diplococcus von Fränkel, Milzbrandbakterien (sporigene).

Wir untersuchten die Wirkung folgender Kolloide:

Großkörniges, kolloidales, elektrisches Silber zu 0,25 $^0/_{00}$ (olivgrüne Lösung), kleinkörniges, kolloidales, elektrisches Silber zu 0,25 $^0/_{00}$ (braunrötliche Lösung), Collargol 1 $^0/_0$, kolloidales Eisenhydrat 1 $^0/_0$, Hyrgol 1 $^0/_0$, Kalomelol 1 $^0/_0$ (kolloidales Kalomel), kolloidales Wismut 1 $^0/_0$, kolloidales elektrisches Platin 0,25 $^0/_{00}$, kolloidales elektrisches Gold 0,25 $^0/_{00}$, kolloidales Arsensulfid 0,55 $^0/_0$.

Um festzustellen, bis zu welchem Grad die Kolloide fähig wären, die Entwicklung der Mikroorganismen zu verhindern, bereiteten wir für jedes der Kolloide eine erste Serie von 6 Tuben, deren erste als Muster diente, und die andern enthielten 2 resp. 4, 10 Tropfen, 1 ccm, 2 ccm Kolloid.

Gleich nachdem die Fleischbrühe mit dem Kolloid vermischt war, säten wir 2 Platinösen Mikroorganismen, die aus einer frischen 24 Stunden alten Kultur stammten, hinein.

Um die mikrobentötende Kraft festzustellen, wurden dieselben Dosen Kolloid in eine zweite Serie von 5 Tuben, in welchen je 5 ccm Kultur derselben Mikroorganismen waren, verteilt. Eine Tube wurde als Probe gehalten, und es kamen noch 2 weitere Tuben dazu mit je 5 und 6 ccm Kultur + 5 ccm Fleischbrühe. Nach Verlauf $^1/_2$ Stunde, 1 Stunde, 3, 7, 12, 24 Stunden wurden 2 Platinheuser aus der Kultur entnommen und in Fleischbrühtuben ausgesät.

Sowohl die Tuben der ersten Serie sowie auch jene, in welche Kultur der zweiten Serie gesät worden war, wurden, wenn die Mikroorganismen nach 24 Stunden noch nicht entwickelt waren, für mehrere Tage in den Wärmeschrank gestellt

und nach 8 Tagen wieder herausgenommen, falls in dieser Zeit die Entwicklung noch nicht gediehen war.

Folgendes sind die Ergebnisse dieser Versuche:

Das Kalomelol, das kolloidale Wismut, das Eisenhydrat (welches in der Fleischbrühe ausfällt, weil es ein elektropositives Kolloid ist, während die Kolloide der Fleischbrühe elektronegativ sind) verhindern bei keiner der oben angegebenen Dosen die Entwicklung irgend eines der genannten Mikroorganismen. Das Hyrgol, das Platin, das Gold und das kolloidale Silber fangen gleich an, hemmend auf die Entwicklung zu wirken, nachdem man 2 bis 5 ccm Fleischbrühe zugesetzt hat.

Das Collargol wirkt hemmend auf die Entwicklung, wenn man 1 ccm hinzufügt.

Als die wirksamsten erweisen sich das kolloidale Arsensulfid und das kleinkörnige Silber (braunrot); diese beiden verhindern die Entwicklung aller Mikroorganismen schon durch Hinzusetzen von 5 Tropfen zu 5 ccm Fleischbrühe; d. h. in einem Verhältnis von 0,028 $^0/_0$ für das erstere und 0,00125 $^0/_0$ für das zweite (4 Tropfen = $^1/_5$ ccm gemessen). Wir müssen erinnern, daß das kolloidale Arsensulfid immer einen bestimmten Teil Arsenigsäureanhydrid enthält, und vielleicht verdankt es diesem Umstande seine Fähigkeit, die Entwicklung der Bakterien zu verhindern. Das kleinkörnige, kolloidale Silber ist also von allen genannten Kolloiden am fähigsten, die Entwicklung der Mikroorganismen zu verhindern.

Die Ergebnisse der Versuche über die bakterientötende Wirkung waren folgende:

Keine der angewandten Dosen Kalomelols, kolloidalen Wismuts, kolloidalen Eisenhydrats töten einen der Mikroben. Das Hyrgol tötet in 7 Stunden die Typhusbakterien, den Diplokokkus, den Staphylokokkus, die Pestbakterien, die Cholerabacillen, wenn sie in der Kultur im Verhältnis von 5 $^0/_0$ sich vorfinden. Unter denselben Bedingungen tötet es den Streptokokkus, den Pyocyaneus, die Dysenteriebakterien, die Diphteriebacillen und den Pneumokokkus, aber erst nach 24 Stunden. Auf die Milzbrandsporen wirkt es nicht. Das kolloidale Platin und Gold töten die Typhusbakterien und den Diplokokkus in 24 Stunden im Verhältnis von 0,0125 $^0/_0$ (1,25 auf 10000); die andern Mikroorganismen lassen sie lebend, auch wenn sie 24 Stunden lang

einwirken. Das Collargol tötet alle Mikroorganismen in 12 Stunden bei einer Minimalkonzentration von 0,5 °/₀.

Das kolloidale Arsensulfid tötet sie in 7 Stunden bei einer Proportion von 0,05 °/₀; vielleicht dank des darin enthaltenen Arsenigsäureanhydrids.

Das kolloidale, olivgrüne Silber tötet keinen der Mikroorganismen in 24 Stunden bei der oben angegebenen Konzentration.

Das kolloidale, braunrote Silber tötet nach 12 Stunden alle Mikroorganismen bei einer Konzentration von 0,007 °/₀ (2 ccm auf 5 ccm Fleischbrühe).

Letzteres ist also auch am meisten befähigt, Mikroben zu töten.

Wir untersuchten, welche Wirkung das kolloidale, kleinkörnige Silber auf die von Streptokokken, Staphylokokken, Typhusbakterien und Diplokokken infizierten Tiere hat. Die Giftigkeit jedes Mikroorganismus wurde durch Übertrag auf Tiere erhöht (Streptokokkus und Staphylokokkus auf Kaninchen, Diplokokkus auf Maus und Kaninchen, Typhus auf Meerschweinchen). Wir erhielten so Stämme von Kulturen in Fleischbrühe, welche ein Kaninchen von 1500 g Gewicht in 24 Stunden bei folgenden Dosen töten: Streptokokkus (intravenös) 1 ccm, Diplokokkus (in Fleischbrühserum) $^{2}/_{10}$ ccm, Staphylokokkus 1 ccm. Der Typhus tötete ein Meerschweinchen von 300 g in 24 bis 36 Stunden bei Dosen von 2 ccm Kultur in das Peritoneum.

Bei jedem Versuch spritzten wir 2 Tieren desselben Gewichtes dieselbe Quantität Kultur ein; eines wurde zur Kontrolle gehalten, und am andern wurde der Versuch mit dem Silber gemacht. Wir machten zwei Serien von Versuchen. Bei der ersten Serie spritzten wir solche Bakterienkultur ein, die schon seit 24 Stunden mit der Silberdosis, deren bakterientötende Wirkung wir erprobt hatten, vermischt war. Bei der zweiten Serie spritzten wir zuerst die Kultur ein und erst nach 12 und 24 Stunden starke Dosen Silber in die Venen. Bei einer dritten Serie, über den Typhus allein, spritzten wir die Kultur in das Peritoneum der Meerschweinchen und dann nach 12 Stunden das Silber auch in das Peritoneum. Der Resultate der Versuche der ersten Serie (2 für jedes Bakterium) waren konstant,

wie vorauszusehen war. Die Tiere, bei welchen die Kultur durch das Silber getötet worden war, blieben definitiv am Leben, während die Kontrolltiere in 24 Stunden verendeten.

Es folgen hier die Versuche der zweiten Serie:

Streptokokkus.

Versuch 1.

Zwei Kaninchen von 1500 g Gewicht werden in die Randvene des Ohres 1 ccm 24 Stunden alter Streptokokkenkultur eingespritzt. Eines davon (Kaninchen A) wird als Kontrolle gehalten, dem andern (Kaninchen B) werden 1 Stunde, nachdem die Kultur eingespritzt wurde, 30 ccm Silber in die Vene des andern Ohres eingespritzt. Nach 24 Stunden verendet das Kaninchen A unter reichlicher Septicämie; das Kaninchen B ist noch am Leben, aber zusammengekauert und zitternd. Nach 42 Stunden verendet es ebenfalls; aus dem Blute des Herzens läßt sich der Streptokokkus isolieren.

Versuch 2.

Derselbe Versuch wie der vorhergehende, mit dem Unterschiede, daß dem Kaninchen B eine zweite Einspritzung von 30 ccm Silber nach 24 Stunden gemacht wird. Das Kaninchen A stirbt nach 24 Stunden, Kaninchen B bleibt noch 5 Tage am Leben; es überlebt das Kontrolltier also um 4 Tage.

Versuch 3.

Ist gleich wie der vorhergehende, nur werden dem Kaninchen B drei Silbereinspritzungen von je 30 ccm, 12 und 24 Stunden nach der Kultureinspritzung, gemacht. Kaninchen A stirbt nach 24 Stunden; Kaninchen B verendet nach 5 Tagen unter reichlicher Streptokokken-Septicämie.

Diplokokkus.

Versuch I.

In die Randvenen zweier Kaninchen von 1600 g Gewicht werden $^{2}/_{10}$ ccm einer 24 stündigen, in Fleischbrühserum gezüchteten und mit 2 ccm sterilisierter, physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Diplokokkenkultur eingespritzt. Das Kaninchen A (Kontrolltier) stirbt nach 24 Stunden. Dem Kaninchen B wird 1 Stunde nach der Kultureinspritzung eine intravenöse Einspritzung von 30 ccm Silber gemacht. Es stirbt in 4 Tagen unter reichlicher Diplokokken-Septicämie.

Versuch 2.

Ist gleich wie der vorhergehende, nur wird dem Kaninchen B 1 Stunde, 12 und 24 Stunden nach der Kultureinspritzung je eine Silbereinspritzung gemacht. Kaninchen A stirbt nach 36 Stunden, B überlebt noch 14 Tage, dann verendet es; es ist nicht möglich, aus dem Blute des Herzens den Diplokokkus zu isolieren.

Versuch 3.

Gleich wie 2a. Kaninchen A stirbt nach 50 Stunden, B bleibt endgültig am Leben.

Staphylokokkus.

Ein einziger Versuch. Intravenöse Einspritzung in 2 Kaninchen von 2000 g Gewicht. Es wird 1 ccm 24 Stunden alter Kultur eingespritzt. Kaninchen A stirbt nach 48 Stunden. Dem Kaninchen B wird $^1/_2$ Stunde, 24 und 36 Stunden nach der Kultureinspritzung je eine Silbereinspritzung von 30 ccm gemacht. Kaninchen B stirbt nach 3 Tagen; es überlebt das Kontrolltier um 24 Stunden.

Typhus.

Wir machen drei Versuche, die wir der Kürze wegen zusammenfassen, da sie gleiche Resultate ergaben. Einigen Meerschweinchen werden in das Peritoneum 2 ccm frischer Typhuskultur eingespritzt. Die Kontrolltiere sterben in 24 bis 36 Stunden. Die Meerschweinchen, denen innerhalb 48 Stunden drei intraperitoneale Einspritzungen von je 5 ccm (deren erste 1 Stunde nach der Kultureinspritzung vorgenommen wurde) gemacht wurden, überlebten definitiv.

Bei der dritten Serie von Versuchen machten wir einem Meerschweinchen eine erste Einspritzung von 5 ccm Silber, und zwar 12 Stunden nach der Kultureinspritzung. Dann werden innerhalb 24 Stunden zwei weitere Einspritzungen derselben Mengen gemacht. Drei Versuche hatten konstante Resultate. Die Kontrollmeerschweinchen starben in 24 bis 48 Stunden unter reichlicher Typhus-Septicämie, während die mit Silber behandelten Tiere definitiv am Leben blieben.

Zusammenfassung.

Wird das kolloidale, kleinkörnige Silber 1 Stunde nach der Strepto- oder Staphylokokkeninfektion eingespritzt, dann wiederholt je 30 ccm, dann wird der Tod um 24 Stunden bis 5 Tage verzögert; aber es gelingt nicht, das Tier von der tödlichen Septicämie zu retten.

Wird das kolloidale Silber 1 Stunde, 12 und 24 Stunden nach der Diplokokken- und Typhusinfektion eingespritzt, dann bleibt das Tier am Leben.

Es rettet auch ein Meerschweinchen von der Typhusinfektion, wenn es erst 12, 16 und 24 Stunden nachher in einer Dosis von je 5 ccm in das Peritoneum eingespritzt wird.

Versuche mit Toxinen.

Wie wir schon berichtet, wirken einige kolloidale Metalle, und zwar ganz besonders das Platin und das kleinkörnige Silber oxydierend. Es war jetzt auf verschiedene Substanzen von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob sie auch die Toxine oxydieren und sie so unschädlich machen können. Durch die Lieberschen Versuche[1]) ist es bekannt, daß die Oxydasen des tierischen Organismus aus der Milz und der Parotis und auch die pflanzlichen aus der Scorzonera hispanica[2]) fähig sind, große Quantitäten Tetanustoxin und Diphtherietoxin in vitro zu oxydieren und zu zerstören.

Das Tetanustoxin wird auch von jenen, welche Lumière und Chevrottier[3]) künstliche Oxydasen nennen und aus Gelatine oder Gummi und Kaliumpermanganat bestehen, vernichtet. In diesem Falle spräche man anstatt von oxydasischer Wirkung besser von oxydierender Wirkung.

Wenn man die toxinenthaltenen Mittel auf Tyrosin prüft (Reaktionen von Millon und Denigès), dann ist die Reaktion stark positiv.

Dieses Tyrosin gehört sicher teilweise den in den Nährmitteln enthaltenen Substanzen, welche zur Kultivierung des Bakteriums dienten, an; aber teilweise ist es auch ein Bestandteil des Toxins selbst, wenn man annimmt, wie viele Autoren möchten, daß die Toxine den Proteinsubstanzen angehören. (Nach Belfanti wäre das Diphtherietoxin ein Nuclein.) So war also wichtig, zu erproben, welche Wirkung die Tyrosinase oder ein das Tyrosin oxydierende Ferment auf das Tyrosin haben. Zu unseren Versuchen benutzten wir 3 Toxine: Diphtherie-, Tetanus- und Dysenterietoxin.

Zuerst bestimmten wir die tödliche Minimaldose dieser Toxine und fanden, daß das Diphtherietoxin innerhalb 48 Stunden ein Meerschweinchen von 300 g bei einer Dose von $^{3}/_{10}$ ccm

---

[1]) Lieber, Über die Entgiftung der Toxine durch die Superoxyde sowie tierische und pflanzliche Oxydasen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 1901, 573.

[2]) Id., Arch. de la Soc. Biol. d. St. Pétersbourg 9, 1901, 151.

[3]) Lieber, Lumière und Chevrottier, Action des oxydases artificielles sur la toxine tétanique. Compt. rend. 1904, 652.

tötet. Vom Tetanustoxin sind 0,003 ccm nötig, um ein Meerschweinchen von 600 g zu töten; eine intravenöse Einspritzung von $^{3}/_{10}$ ccm Dysenterietoxin tötet ein Kaninchen von 1300 g Gewicht nach 48 Stunden.

In der ersten Serie von Versuchen untersuchten wir die Wirkung der drei Toxine, welche wir während einiger Stunden mit einer aus der Russula delica entnommenen Tyrosinase (Tyrosinase von G. Bertrand) im Wärmeschrank in Berührung gebracht hatten. Da alle Versuche gleiche Resultate ergaben, betrachten wir es als unnütz, alle einzeln wiederzugeben. Die Tiere, welche die drei der Wirkung der Tyrosinase in vitro ausgesetzt gewesenen Toxine eingespritzt wurden, ertrugen sehr starke Dosen Toxin ohne die geringste Störung. Dieses war also von der Oxydase zerstört worden, übereinstimmend mit den Lieberschen Versuchen.

In der zweiten Serie untersuchten wir, welche Wirkung die drei Toxine haben, nachdem wir sie während einiger Stunden mit kleinen (wenige Tropfen) und großen Dosen (1 ccm Tyrosin mit 5 ccm) Silber im Wärmeschrank in Verbindung gebracht hatten.

Die Versuche ergaben das Gegenteil der vorhergehenden, und die Resultate können so zusammengefaßt werden: Das Diphtherie-, Dysenterie- und Tetanustoxin werden von dem kolloidalen Silber in vitro gar nicht verändert; gleiche Dosen, ob mit Silber behandelt oder nicht, töten das Tier.

In der dritten Serie spritzten wir dem Tiere die tödliche Dosis oder eine noch größere ein und sofort darauf starke Dosen Silber. Zu diesen Versuchen nahmen wir das Kaninchen, von dem wir schon wußten, daß es sehr widerstandsfähig gegen in die Venen eingeführte, starke Dosen Silber war. Für jedes Toxin machten wir zwei Versuche.

Im ersten spritzten wir die minimal tödliche Dosis ein und im zweiten eine 10mal größere. Gleich darauf spritzten wir in die Randvene des Ohres 30 ccm kolloidales, kleinkörniges Silber zu 0,30 $^{0}/_{00}$. Gleichzeitig mit jedem Versuche spritzten wir zur Kontrolle einem Kaninchen desselben Gewichtes und beinahe der gleichen Farbe dieselbe Dosis Toxin ein.

Die Resultate dieser Versuche waren konstant.

Wird das kolloidale Silber in großen Dosen sofort nach dem Tetanus-, Diphtherie- und Dysenterietoxin in die Venen

eingespritzt, dann ist es imstande, ein Kaninchen am Leben zu erhalten, wenn ihm auch 10mal größere Dosen als die minimal tödliche eingespritzt werden.

Wie ist es zu erklären, daß die Wirkung des Toxins aufgehoben wird, wenn das Silber in die Venen eingespritzt wird, und nicht, wenn es direkt mit dem Toxin in vitro vermischt wird?

Allerdings wurden im ersteren Falle Dosen Silber eingespritzt, die größer waren als jene, die in vitro mit dem Toxin vermischt wurden; aber tatsächlich wurde dieses Silber im Blute sehr verdünnt, und im Verhältnis zum eingespritzten Toxin war es in noch geringerer Konzentration vorhanden, als jenes bei den Versuchen in vitro. Es ist also nicht die Quantität Silber, welche die Resultate der Versuche der dritten Serie beeinflußt. Um diese Ergebnisse zu erklären, müssen wir auf die Versuche über die Wirkung der kolloidalen Metalle auf das Tyrosin allein und in Gegenwart von Tyrosinase zurückkommen. In jenen Versuchen hatten wir gefunden, daß keines der kolloidalen Metalle das Tyrosin direkt oxydiert, aber daß das Platin und das Silber die Wirkung der Tyrosinase sehr erhöhen. Wenn man bedenkt, daß die Tyrosinase in beinahe allen Organen verbreitet ist, erscheint die Hypothese, daß das kolloidale Silber in vitro nicht fähig ist, die Toxine zu oxydieren, so wie es auch das Tyrosin nicht oxydiert, nicht ungerechtfertigt. Nach dieser Hypothese würde das kolloidale Silber nicht direkt auf die Toxine wirken, sondern dem Organismus eine größere Fähigkeit verleihen, durch Oxydieren die Bakterientoxine zu zerstören, d. h. ihn widerstandsfähiger zu machen.

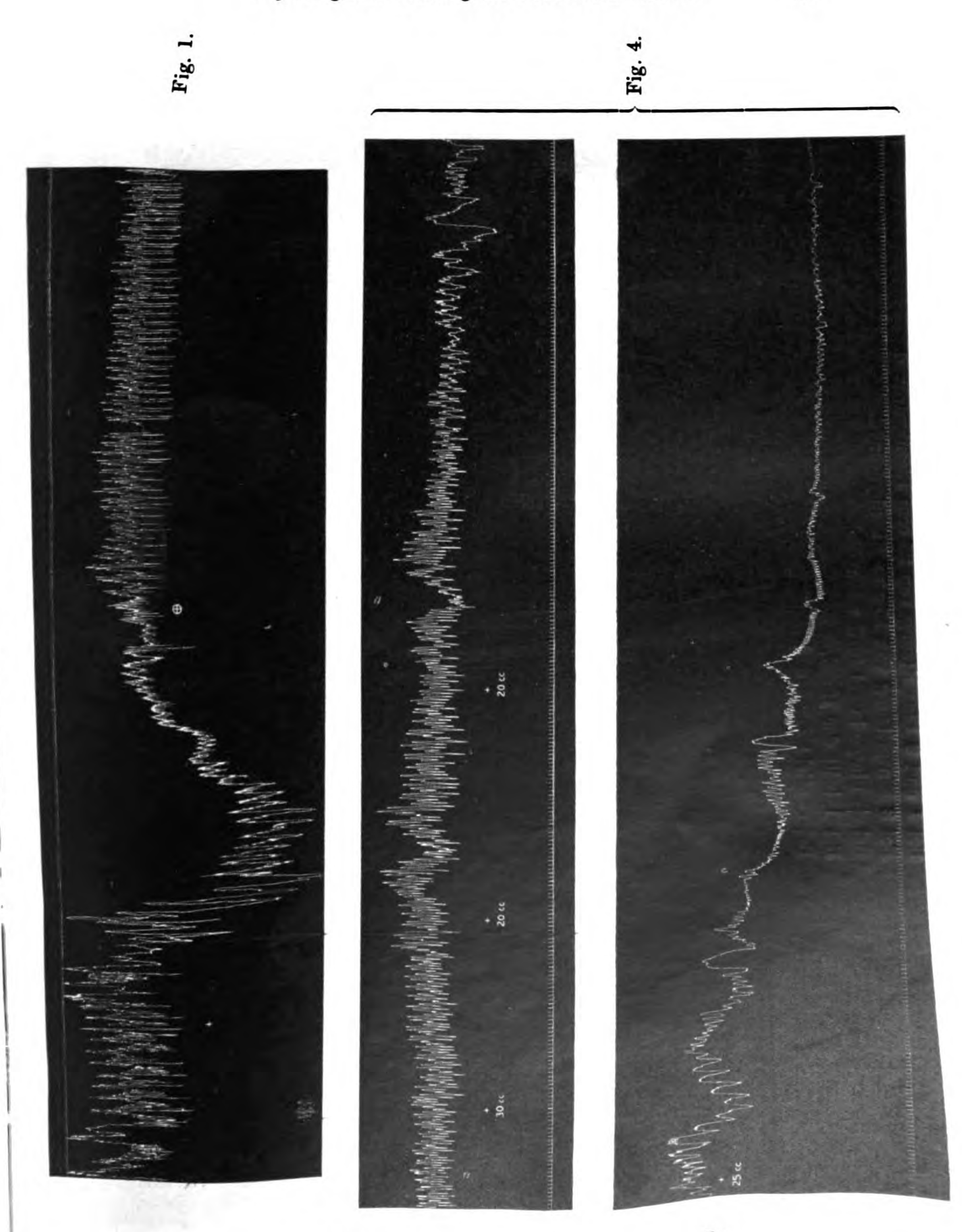


Fig. 1.

Fig. 4.

Fig. 6.

Bei 1 und 2 Einspritzung von 25 ccm Eisenhydroxyd.

Bei 3 Einspritzung von 15 ccm Eisenhydroxyd.

Bei + Blutgerinnsel in der Kanüle.

Bei ⊥ bellt der Hund.

Bei O stirbt der Hund.



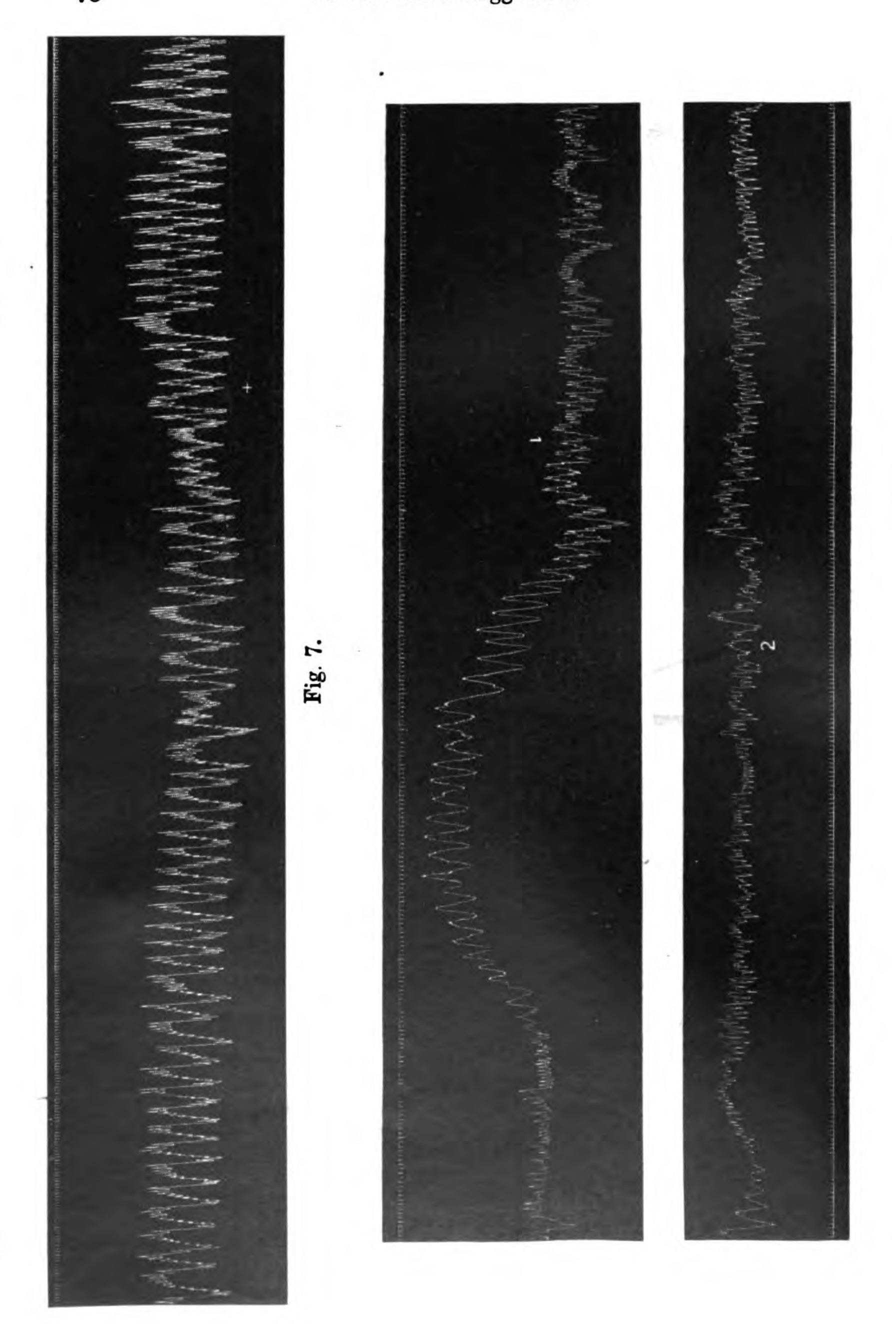


Fig. 7.

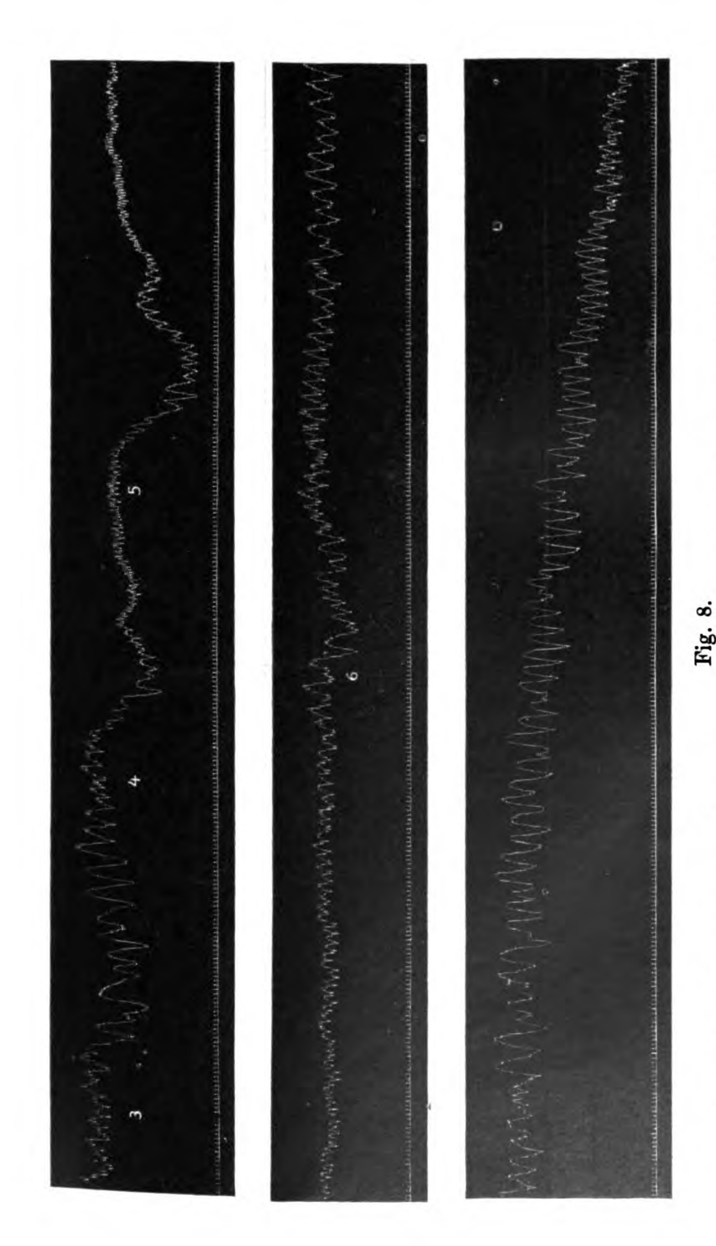


Fig. 8.

Bei 1 Einspritzungen von 30 ccm Ag
„ 2 Einspritzungen von 20 „ Ag
„ 3 „ 20 „ Fe

Bei 4 Einspritzungen von 10 ccm Fe
„ 5 „ „ 15 „ Fe
„ 6 „ „ 15 „ Ag

1
As

2
As.

3
Fe

4
Fe

5
Fe

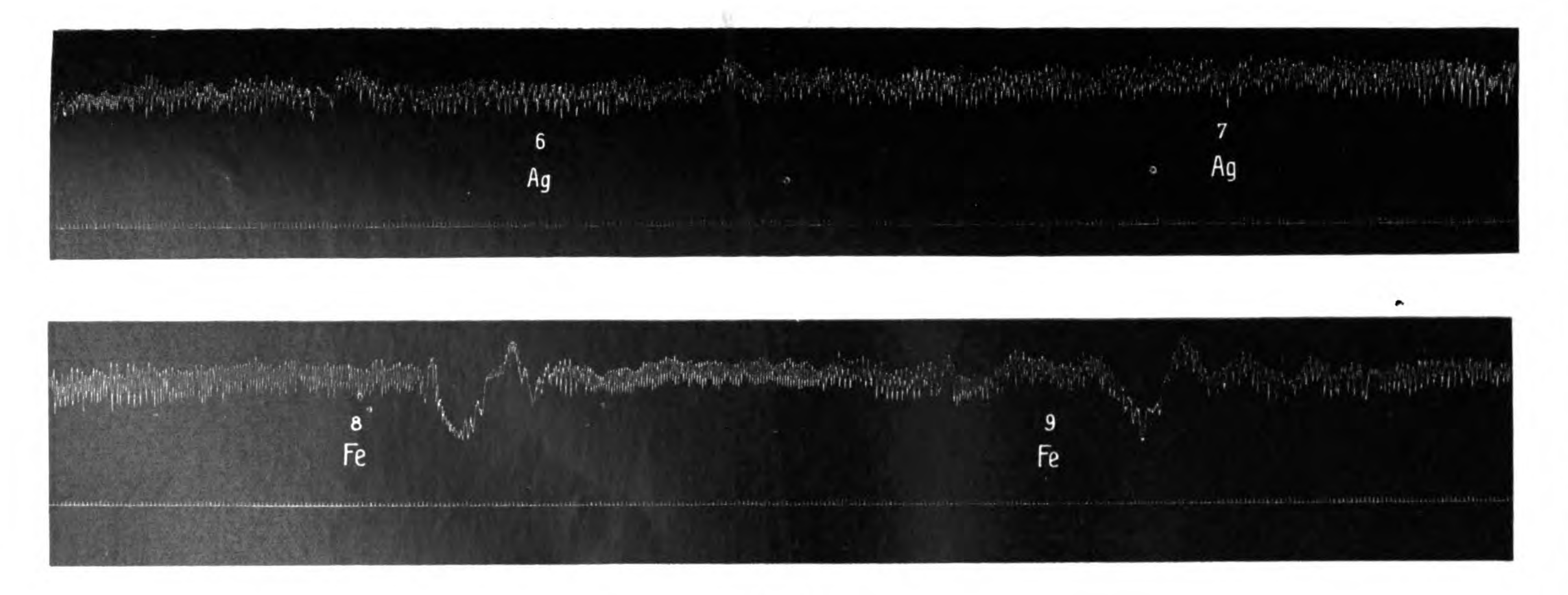


Fig. 9.

Über Fleischersatzmittel.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 27. Mai 1909.)

Eine längere Reihe von Jahren hindurch habe ich mich u. a. mit der Frage beschäftigt, ob es nicht möglich wäre, ein billiges, für die Aufbesserung der Nahrung der unteren Volksschichten geeignetes Eiweißmaterial zu beschaffen.

Die Wichtigkeit dieses Problems kann nicht bestritten werden. Denn wenn in der Wertschätzung des Eiweißes zurzeit auch eine rückläufige Bewegung eingetreten zu sein scheint und hervorragende Forscher jetzt auf dem Standpunkt stehen, daß die Bestrebungen, ein Eiweißmaterial für die allgemeine Ernährung einzuführen, aussichtslos und auch theoretisch nicht gerechtfertigt sind, so läßt sich doch mancherlei gegen diese Anschauungen einwenden. Es ist sicher richtig, daß der menschliche Organismus auch mit einer verhältnismäßig eiweißarmen Nahrung auskommen kann, es ist auch nicht zu bestreiten, daß, wie Baelz[1]) vor einiger Zeit ausgeführt hat, sehr erhebliche körperliche Leistungsfähigkeit bei verhältnismäßig geringer Eiweißzufuhr bestehen kann. Die Anschauung, daß eine relativ hohe Eiweißzufuhr unnötig und ein Luxus sei, erscheint mir trotzdem nicht ausreichend begründet. Grobe körperliche Leistungen sind doch nicht das einzige, was vom Menschen ver-

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 26. Baelz exemplifiziert dabei auf die Japaner, betont übrigens aber, daß es ein Irrtum sei, wenn der Reis für die fast ausschließliche Nahrung der Japaner und Chinesen gehalten wird, vielmehr würden auch sehr eiweißreiche Vegetabilien genossen.

langt wird. In vielen Industriezweigen sind heute auch die an den Arbeiter gestellten Anforderungen psychischer Art hinsichtlich Intelligenz, Aufmerksamkeit, schneller Entschlußfähigkeit unerwarteten Vorkommnissen gegenüber usw. nicht geringe. Ob auch für diese Leistungen geistiger Art eine nur nach der Zahl der Kalorien bemessene Nahrung mit einem Minimum von Eiweiß genügt, erscheint mir sehr zweifelhaft. Ich bin auch überzeugt, daß unter den Ursachen der größeren Morbidität und Mortalität, der geringeren Widerstandsfähigkeit der handarbeitenden Schichten der Bevölkerung die ungenügende Ernährung, d. h. der Hauptsache nach der zu geringe Eiweißgehalt der Nahrung eine wesentliche, vielleicht die Hauptrolle spielt. Diese Anschauung, mit der ich sicher nicht allein stehe, hat neuerdings eine wesentliche Stütze erfahren in den wichtigen Mitteilungen von J. Forster[1]), aus denen man schließen kann, daß die Bildung spezifischer Antikörper von der Reichlichkeit der Eiweißzufuhr abhängig ist.

Nun ist gewiß nichts schwerer, als in den Volksgewohnheiten eine Änderung herbeizuführen, wie sie in dem Zusatz eines Eiweißpulvers oder Eiweißpräparates zur gewohnten Nahrung bestehen würde. Dennoch wäre es unrichtig, den Versuch aus diesem Grunde von vornherein als aussichtslos aufzugeben. Er hat ernstlich[2]) noch nicht gemacht werden können, weil es bisher an einem geeigneten Eiweißmaterial fehlte. Was ich unter „geeignet" verstehe, möchte ich hier kurz zusammenfassen. Ein solches muß bedeutend billiger als das Eiweiß des Fleisches, leicht assimilierbar, geruchlos, von angenehmem Geschmack oder geschmackfrei sein. Unter „Geschmack" ist dabei auch die physikalische Beschaffenheit zu subsumieren: das be-

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 49.

[2]) Davon muß ich allerdings eine Ausnahme statuieren. Mit einem „Carne pura" genannten Fleischpräparat — getrocknetes, gepulvertes Fleisch mit Salzzusatz — ist vor etwa 26 Jahren der Versuch zur Einführung in umfassender und durchaus zweckmäßiger Weise gemacht worden. Weshalb er nicht gelungen ist, ist mir nicht bekannt. Vielleicht war bei den damaligen Fleischpreisen die Preisdifferenz gegenüber dem Eiweiß des frischen Fleisches nicht groß genug, vielleicht war auch der Salzgehalt etwas zu hoch. Das Präparat, gegen das nichts einzuwenden ist, kostete im Kleinverkehr pro Kilo 4,50 M.

treffende Eiweißpräparat darf keinen „sandigen" Geschmack haben, da wir eine weiche Beschaffenheit der Nahrung gewohnt sind, auch nicht klebrig sein, es darf endlich nicht äußerlich abstoßend wirken usw.

Wer, wie ich, der Überzeugung ist, daß die Ermöglichung einer reichlicheren Eiweißzufuhr in der Nahrung der unteren Volksschichten von weittragender sozialökonomischer Bedeutung ist, der hat auch, sofern er dazu befähigt ist, beinahe die moralische Verpflichtung, sich an der Lösung dieser Frage zu beteiligen, die nur durch die Arbeit Vieler gelöst werden kann. Von diesem Gesichtspunkt aus habe ich vor einer längeren Reihe von Jahren meine Untersuchungen über die Einwirkung des überhitzten Wassers auf Eiweiß[1]) resp. Fleischrückstände unternommen in der Idee, daß es vielleicht gelingen möchte, die enormen Quantitäten von Fleischrückständen, welche bei der Fabrikation des Liebigschen Fleischextraktes entfallen, gewissermaßen zu verflüssigen, dem Verderben zu entziehen und zu Ernährungszwecken zu verwenden, Versuche, die allerdings in bezug auf das mir vorschwebende Ziel als gänzlich gescheitert angesehen werden müssen.

Zunächst zeigte es sich in einem an einem Hunde von 24 kg Körpergewicht angestellten Versuche im Stickstoffgleichgewicht, daß es nicht möglich ist, das gesamte Eiweiß des Fleisches durch Atmidalbumose aus Fibrin zu ersetzen, weil dieselbe starke Durchfälle verursachte und nur zu 75,8 % resorbiert wurde. Etwas günstiger verlief allerdings ein zweiter Versuch an einem kleinen Hunde von 4670 g Körpergewicht, bei dem nur fast $^2/_3$ des Eiweißes der Nahrung aus Atmidalbumose bestand.

An sechs Fütterungstagen nahm das Tier 350 g Fleisch = 11,55 N, 300 g Reis = 2,91 N, 180 g Atmidalbumosen = 26,75 N, zusammen 41,21 N auf. Davon wurden 15,5 % durch den Darm ausgeschieden. Die Faeces waren dünn, aber nicht häufig, und das Körpergewicht war von 4670 auf 4750 g gestiegen. Da die Albumosen praktisch doch nie den Gesamt-N der Nahrung enthalten würden, so würden sie in dieser Hinsicht genügen und jedenfalls besser verwertet werden, als die sog. Somatose,

[1]) Zeitschr. f. Biol. 34, 190.

die man wohl als Atmidalbumose[1]) ansehen muß. Denn Hildebrandt[2]) fand beim Menschen, daß von dem N einer Nahrung, deren N zu noch nicht $^3/_5$ die Form der Somatose hatte, nur 66,7 °/₀ resorbiert wurde. In den Versuchen von Kuhn und Volker[3]) wurden sogar bei Einführung von 84 g Somatose pro Tag unter Umständen fast 60 °/₀ des Stickstoffs durch den Darm wieder ausgeschieden! Dagegen sind die mit der Atmidalbumose aus Fibrin erhaltenen Resultate noch relativ günstig, für die vorliegende Frage der Verwertung der Fleischrückstände aber bedeuten sie nichts. Denn erstens gelten sie nur für die Atmidalbumose aus Fibrin, nicht für die aus Fleisch, die nur widerwillig aufgenommen wurde und Erbrechen erregte, und zweitens geht von den Fleischrückständen bei Behandlung mit überhitztem Wasser überhaupt nur $^1/_8$ in Lösung. Es ist zwar möglich, durch stärkere Erhitzung mehr in Lösung zu bringen, aber dann ist das Produkt ganz ungenießbar.

Das Bestreben, ein für die Volksernährung geeignetes Eiweiß-

---

[1]) Die von der Elberfelder Farbenfabrik (Bayer & Co.) vertriebene Somatose ist nach ihrem ganzen Verhalten wohl sicher zu den Atmidalbumosen zu rechnen. Das Darstellungsverfahren ist zwar nicht bekannt, es ist jedoch wahrscheinlich, daß sie nach einem seinerzeit zum Patent angemeldeten Verfahren (ob ein Patent erteilt ist, weiß ich nicht) dargestellt wird, nach welchem fett- und sehnenfreie Fleischfasern 15 Stunden lang mit 3 °/₀ iger Oxalsäurelösung erhitzt, die Oxalsäure dann durch Kalk entfernt wird. Für diese Vermutung spricht ein geringer Gehalt der Somatose an Oxalsäure in Form von oxalsaurem Kalk, der augenscheinlich in der Somatose nicht ganz unlöslich ist. Man kann denselben nachweisen, indem man eine Lösung von Somatose mit Essigsäure übersättigt, wobei der ursprünglich entstandene Niederschlag sich wieder auflöst und dann mit Chlorcalciumlösung versetzt: beim Stehenlassen bildet sich innerhalb 24 Stunden ein zarter Anflug am Boden des Glases, in dem sich mikroskopische Krystalle in der von Feser und Friedberger (Malys Jahresb. 4, 231) beschriebenen Form finden. Löst man den Niederschlag in Salzsäure und übersättigt schwach mit Ammoniak, so scheidet sich oxalsaurer Kalk in den typischen quadratischen Oktaëdern aus. Ebenso gehen Spuren von Oxalsäure aus der mit Salzsäure angesäuerten Lösung in Äther über. In hygienischer Beziehung ist dieser minimale Gehalt an Oxalsäure, wie ich nicht versäumen will zu bemerken, ganz bedeutungslos, da er viel geringer ist als in vielen pflanzlichen Nahrungsmitteln.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 180.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1894, Nr. 47.

präparat zu beschaffen, hat mich auch bei meiner Arbeit über den Nährwert des trockenen, pulverförmigen Caseins geleitet; die Erreichung dieses Zieles erschien insofern nicht ganz aussichtslos, als im Handel Casein (vielfach, namentlich früher, Lactarin genannt) — freilich zu Nährzwecken nicht geeignetes — schon zum Preise von 1 M. pro Kilogramm zu haben ist, also etwa zum achten Teil des Preises, den das Eiweiß im Fleisch hat. Meine Bemühungen führten mich zu einem Ammonsalz des Caseins, dem „Eucasin"[1]). Gleichzeitig haben auch Liebrecht und Röhman[2]) über die Frage der Verwendbarkeit des Caseins gearbeitet und die Nutrose daraus dargestellt. Ich darf wohl für Röhman und mich das Verdienst in Anspruch nehmen, den Anstoß zur diätetischen Verwendung von Eiweißpräparaten an Stelle der Albumosen gegeben zu haben, wenn auch das ursprüngliche Ziel, das mir wenigstens vorschwebte, einen billigen Ersatz für ungenügendes Eiweiß der Nahrung zu schaffen, nicht erreicht wurde. Auch die zahlreich inzwischen aufgetauchten Eiweißpräparate, von denen sich nur wenige, wie das Tropon, Aleuronat, Roborat, Plasmon, Sanatogen — von zusammengesetzten Präparaten sehe ich hier ab —, in Gebrauch gehalten haben, stellen keine volle Lösung der Frage dar.

Ich gehe nun zur Mitteilung meiner Versuche über. Der erste Teil soll von den animalischen, der zweite von den vegetabilischen Eiweißpräparaten handeln. Die Versuche sind ausschließlich an Hunden angestellt, da mir zu Beobachtungen am Menschen die Gelegenheit fehlte, sie sind also, insoweit nicht anderweitige Versuche am Menschen vorliegen, in gewissem Sinne nur als Vorversuche anzusehen.

Um zu einem Urteil über die Brauchbarkeit verschiedener Eiweißarten resp. -präparate zu gelangen, habe ich mit einer Ausnahme nur Ausnutzungsversuche angestellt. Dieses Vorgehen bedarf wohl einiger Worte zur Rechtfertigung. Zweifellos sind Bilanzversuche, bei denen täglich auch der Harn

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1896, Nr. 15. Daß das Eucasin keine dauernde Anwendung gefunden hat, liegt lediglich an Mängeln der Fabrikation, an sich steht es dem Sanatogen ganz gleich. Die diesem beigemischten 5°/₀ glycerinphosphorsaures Natron sind für die Ernährung ohne Bedeutung.

[2]) Chem. Centralbl. Jahrg. 1896. I. 783.

quantitativ gesammelt und sein N-Gehalt ermittelt wird, die bessere und beweisendere Versuchsform. Daß ich trotzdem, mit einer Ausnahme, die einfachen Ausnutzungsversuche vorgezogen habe, geschah aus folgenden Gründen: Bilanzversuche lassen sich nur an größeren Hunden anstellen, die dann auch entsprechend große Quantitäten der betreffenden Eiweißarten erfordern, um so mehr, als mir nur einige Tage dauernde Versuche für meine Zwecke nicht ausreichend erschienen. Es wäre mir aber kaum möglich gewesen, das betreffende Versuchsmaterial in ausreichender Menge herzustellen resp. zu beschaffen. Ich mußte mich also mit Ausnutzungsversuchen an kleinen Hunden begnügen, suchte diesen aber, wenn irgend möglich, eine längere Ausdehnung zu geben. Das war allerdings nicht immer möglich, weil die Tiere vielfach die Aufnahme der ungewohnten Nahrung verweigerten. Es ist ja bekannt, wie kapriziös die Hunde in diesem Punkte sind. Öfters verweigerten sie die Aufnahme eines bestimmten Nahrungsgemisches nur der äußeren Form wegen, das gilt ganz besonders für die Breiform. Es genügte öfters ein Eindampfen eines Breies bis zur annähernden Trockenheit oder das Braten mit Speck statt einfacher Beimischung desselben, um das Gemisch dem Hunde genehm zu machen. Es waren also öfters Vorversuche erforderlich. Diese sind hier nicht mitgeteilt. In Verbindung mit einer Kontrolle des Körpergewichts und des allgemeinen Verhaltens des Tieres schienen mir Ausnutzungsversuche bei genügend langer Dauer ausreichend, um zu einem Urteil über den Wert des betreffenden Präparates zu gelangen. In einigen lange dauernden Versuchen ist auch der Harn im Käfig gesammelt, was bei lange dauernden Versuchen allenfalls zulässig ist.

Außer den angeführten Gründen sprachen für die Wahl der einfachen Ausnutzungsversuche auch noch andere Umstände. Es ist natürlich bei der willkürlichen Zusammensetzung der Nahrung in bezug auf die Quantität nicht möglich, stets das Richtige zu treffen, d. h. sowohl das „Zuviel als das Zuwenig“ zu vermeiden; es war daher öfters nötig, während des Versuches kleine Änderungen in der Zusammensetzung der Nahrung vorzunehmen; Voraussetzung für den Bilanzversuch ist aber — abgesehen von besonderen Zwecken — das Gleichbleiben der Nahrungsaufnahme Tag für Tag. Endlich machen Bilanz-

versuche mehr Arbeit. Da ich sämtliche Analysen selbst ausgeführt und bezüglich der Herstellung des Futters wenigstens das Eiweißpräparat stets, meistens auch die anderen Materialien, selbst abgewogen oder mindestens kontrolliert habe, so mußte ich mir in dieser Beziehung einige Beschränkung auferlegen, ich hätte sonst die erforderliche Zeit nicht aufbringen können.

Dem praktischen Zweck entsprechend, d. h. da es sich unter den realen Verhältnissen nie um einen vollständigen Ersatz des Eiweißes der Nahrung durch ein Eiweißpräpararat handelt, ist öfters nicht das gesamte Eiweiß (abgesehen von dem geringen N-Gehalt des Beifutters) in Form des zu prüfenden Eiweißpräparates zugeführt, sondern nur der größere Teil.

Was die Abgrenzung des Kotes betrifft, auf die natürlich sehr viel ankommt, so wurden verschiedene Verfahren angewendet. In manchen Fällen erübrigte sich die Abgrenzung zu Beginn des Versuches überhaupt, nämlich wenn das Tier vorher ein nur aus Küchenabfällen mit reichlicher Knochenbeigabe bestehendes Futter erhalten hatte. Vielfach wurde die von Rubner[1]) in seinen Ausnutzungsversuchen am Menschen für diesen Zweck angewandte und empfohlene Milch benutzt, die in der Tat eine vortreffliche Abgrenzung gibt. Da aber nicht alle Hunde Milch in ausreichender Quantität zu sich nahmen, wurden auch andere Substanzen gewählt, so das, wenn ich nicht irre, von Cremer empfohlene Kieselgur, das allerdings in ziemlich großen Mengen angewendet werden muß und dann durch sein Volumen Schwierigkeiten macht. Besser geeignet fand ich sehr fein zerriebene Knochenasche oder gefällten phosphorsauren Kalk, auch Knochen selbst nach Voit sind geeignet. Übrigens machte die Abgrenzung nie Schwierigkeiten. Am Schlusse des Versuches erhielt das Tier stets reichliches, stark knochenhaltiges Futter, durch das oft noch unerwartet viel Versuchskot herausbefördert wurde, dessen Vernachlässigung erhebliche Fehler verursacht haben würde.

Daß der Stickstoff des Kotes nicht allein von dem nicht resorbierten Rest des Nahrungseiweißes herrührt, sondern auch von den Verdauungssäften, ist seit den oben zitierten Untersuchungen Rubners über die Ausnutzung der Nahrung bekannt,

[1]) Zeitschr. f. Biol. 15, 114.

es fehlt uns aber die Möglichkeit der Unterscheidung zwischen diesen beiden Stickstofformen, und praktisch kommt es auch auf dasselbe hinaus, ob die Nahrung an sich schlecht resorbiert wird oder unter ihrem Gebrauch ein größerer Verlust von Stickstoff der Verdauungssäfte durch den Kot stattfindet. Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich zur Mitteilung meiner Versuche über.

Erster Teil.

Eiweiß animalischen Ursprunges.

Als Material für die Herstellung billigen animalischen Eiweißes zu Ernährungszwecken kommen nur zwei Ausgangsmaterialien in Betracht: die Rückstände von der Fabrikation des Liebigschen Fleischextrakts und das Blut der Schlachttiere.

I. Versuche mit Eiweiß aus Fleischrückständen.

Zur Darstellung von Eiweiß aus Fleischrückständen wurde in Anlehnung an frühere Angaben von Krukenberg folgendermaßen verfahren: 100 g käufliche Fleischrückstände wurden mit 2 l Wasser und 20 ccm Salzsäure von 1,124 D zum Sieden erhitzt und noch ca. $^1/_4$ Stunde im Sieden erhalten, dann die gequollene Masse durch ein ziemlich großlöcheriges Metallsieb (sog. Durchschlag) gedrückt unter Verwendung von 1 l Wasser zum Nachspülen. Die durchgedrückte Masse wurde mit ca. 3 l Wasser verdünnt, dann bis zu neutraler resp. schwach alkalischer Reaktion Natriumcarbonatlösung hinzugesetzt (es sind etwa 50 ccm gesättigte Lösung erforderlich). Die Masse wird nun durch Preßtuch koliert, mit 1 l heißem Wasser nachgewaschen. Zur Entfernung des in großer Menge imbibierten Wassers erwies sich folgendes Verfahren zweckmäßig: Das über dem Niederschlag zusammengefaltete Preßtuch wurde in einer trockenen, bedeckten Schale einige Zeit auf dem Wasserbade erhitzt; dabei trat ein großer Teil des Wassers aus. Schließlich wurde die Masse bis zu dem gewünschten Grade der Trockenheit abgepreßt.

Fütterungsversuch 1 (Fleischalbuminat).

Zu dem Fütterungsversuch kamen zwei auf Eis aufbewahrte Präparate von etwas verschiedenem N-Gehalt zur Anwendung,

das erste mit 2,972 % N an 3 Tagen (23., 24., 25. März), das zweite mit 2,773 % N an 2 Tagen (26. und 27. März).

Der Versuch wurde an einer großen Hündin von 35,700 kg Anfangsgewicht angestellt. Das Tier war mit 500 g Fleisch und 100 g Speck annähernd in Stickstoffgleichgewicht und wurde in der üblichen Weise katheterisiert. Der Versuch dauerte 12 Tage, an 5 Tagen wurde das Fleisch durch das Fleischpräparat, das im folgenden Fleischalbuminat genannt werden soll, ersetzt. An diesen Tagen wurden der Nahrung noch je 2 g K_2HPO_4 zugesetzt. Der Hund zeigte an allen Tagen völliges Wohlbefinden, Verdauungsstörungen traten nicht auf.

Nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die Versuchsergebnisse.

Datum	Körpergewicht in Kilo	Futter	N im Harn	N in den Faeces	Datum	Körpergewicht in Kilo	Futter	N im Harn	N in den Faeces
18. 3.	—	500 g Fleisch + 100 g Speck	—	—	25. 3.	35,630	538 g Fleischalbuminat + 100 g Speck	15,30	
19. 3.	35,700	do.	13,37	—	26. 3.	35,520	do.	13,34	
20. 3.	35,500	do.	15,75	—	27. 3.	35,370	do.	15,26	
21. 3.	35,680	do.	15,47	—	28. 3.	35,250	500 g Fleisch + 100 g Speck	15,40	
22. 3.	35,670	do.	17,29	—	29. 3.	35,150	do.	14,21	
23. 3.	35,750	530 g Fleischalbuminat + 100 g Speck	17,36	—	30. 3.	35,150	0		3,598
24. 3.	35,750	do.	16,17	4,24					

Hierzu noch einige Bemerkungen.

Die N-Ausscheidung durch den Harn zeigt an den Albuminattagen ein deutliches Absinken, was auf die schlechtere Resorption gegenüber dem Fleisch hinweist.

Kotentleerung fand statt 1. am 24. 3. ca. 53 g. Diese Entleerung gehörte auffallenderweise noch ganz dem früheren gemischten, Linsen enthaltenden Futter an; 2. am 28. 3. ca. 151 g = 63,5 g trocken; 3. am 30. 3. durch Klysma bewirkt = 44,5 g trocken.

Abgrenzung des Kotes ist in diesem Falle unterlassen, um nicht vielleicht durch die zugesetzte unverdauliche Substanz störend auf die Resorption einzuwirken.

Sehen wir nun, wie sich die Ausnutzung des Stickstoffes gestaltet.

An den 5 Fütterungstagen ist eingenommen:

1.	3 × 538 g Fleischalbuminat	= 1614 g	
	à 2,972 % N	=	47,936 g N
2.	2 × 538 g Fleischalbuminat	= 1076 g	
	à 2,773 % N	=	29,838 g N
3.	500 g Speck à 0,243 % N	=	1,215 g N
		zusammen	78,989 g N

Die N-Ausgabe durch die Faeces betrug während des ganzen Versuchs 4,424 + 3,598 = 8,022 g.

Mit Rücksicht auf das lange Verweilen der Nahrung im Darm wird man die N-Ausnutzung des Fleisches als nahezu vollständig ansehen können. Um die Rechnung nicht zu günstig für das Albuminat zu gestalten, nehme ich sie zu 97,5 % an. Auf die an 7 Tagen verfütterten 3500 g Fleisch würden somit 2,975 g N im Kot entfallen, somit auf das Albuminat 5,047 g. Es sind somit 73,942 g = 93,62 % N ausgenützt.

Die N-Ausscheidung im Harn betrug an den 5 Albuminattagen 77,42 g. Hierzu 5,047 g in den Faeces ergibt eine Gesamtausscheidung von 82,467 g. Da nur 78,989 N eingenommen, sind 3,478 g N vom Körper abgegeben.

Das an sich geschmackfreie Fleischalbuminat läßt sich in verschiedenen Zubereitungen sehr gut auch für den Menschen genießbar machen. Dasselbe erfordert natürlich eine Konservierung, am einfachsten in zugelöteten, dann erhitzten Blechbüchsen. Es ist nicht schwierig, eine einigermaßen konstante Zusammensetzung der Masse in den Büchsen zu erzielen. Zwei von mir hergestellte feuchte, in sterilisierten Büchsen aufbewahrte Präparate zeigten folgende Zusammensetzung in Prozenten:

	I	II	Mittel
Eiweiß (N × 6,25) . . .	21,72	22,97	22,345
Fett	8,21	7,31	7,16
Salze	0,28	0,34	0,31
Wasser (Differenz zu 100)	69,79	69,38	69,585

Es sei noch besonders hervorgehoben, daß der Geschmack auch nach monatelanger Aufbewahrung nicht ranzig war. Zu einer praktischen Anwendung ist es nicht gekommen.

Sehr viel leichter als aus den käuflichen trockenen Fleischrückständen geht die Darstellung aus den frischen feuchten Rückständen. Es ergab sich daher naturgemäß die Frage, ob man nicht die feuchten Rückstände am Orte der Gewinnung mit der nötigen Quantität Salzsäure imprägnieren und sie dadurch transportfähig machen könnte. Die Darstellung könnte dann in Europa ebenso gut wie aus frischen Rückständen vorgenommen werden. Durch freundliche Vermittelung des damaligen Ministerresidenten (Gesandten) für Uruguay in Berlin gelang es mir, in den Besitz einer kleinen Quantität solcher in Montevideo durch Salzsäure konservierter feuchter Rückstände zu gelangen. Die Quantität der Salzsäure war so bemessen, daß etwa 20 g Salzsäure auf 100 g trockene Rückstände kamen. Bei einer bestimmten Art des Vorgehens — die kleinen Einzelheiten lassen sich schwer beschreiben — gelang es in der Tat, mit großer Leichtigkeit, viel besser als aus den trockenen Rückständen, ein allen Ansprüchen genügendes Fleischalbuminat zu erhalten.

Beiläufig möchte ich Versuche zur Konservierung von frischem gehacktem Fleisch ohne Abschluß durch Verlötung erwähnen, welche mir nicht ohne Interesse erscheinen.

Ich benutzte dazu besonders große Zinntuben, wie sie zur Aufbewahrung von Malfarben gebraucht werden. Dieselben wurden oben zugelötet, zu etwa drei Viertel mit Fleisch gefüllt, dann unten mehrmals umgefaltet, die Falten durch Streichen mit dem Messer unter starkem Andrücken oder im Schraubstock festgedrückt, dann die Tuben etwa 1 Stunde lang, vom Ausströmen des Dampfes an gerechnet, im Kochschen Dampftopf sterilisiert. Dabei sickerte ein wenig Flüssigkeit nach außen hindurch, welche nicht weiter beachtet wurde und allmählich eintrocknete. Nach $^1/_2$ bis $^3/_4$ Jahren wurden die Tuben geöffnet. Das Fleisch zeigte sich anscheinend ganz unverändert, völlig geruchlos, nur von auffallend hellroter Farbe. Der Verschluß war also bakteriendicht gewesen, ähnlich wie in den alten Versuchen von Helmholtz, bei denen das Eindringen von Bakterien aus der Luft durch Verschluß mittels einer mehrfach gebogenen Glasröhre verhindert wurde, oder in den Versuchen von Meißner mit Flüssigkeiten, wie Milch, in denen die eingetrocknete Flüssigkeit an der Ausmündung gleichfalls einen bakteriendichten Verschluß bildete. Bei näherer Untersuchung zeigte sich das Fleisch aber vollständig durchzogen von Schimmelpilzfäden. Entweder waren die Sporen derselben nicht getötet oder, was wahrscheinlicher, sie waren durch die capillaren Öffnungen hindurchgewachsen. Auch in der durch Überhitzen konservierten Milch, die früher unter gutem Verschluß durch Korke im Handel war, habe ich ein solches Durchwachsen von Schimmelpilzen beobachtet.

Die unleugbaren Unannehmlichkeiten, welche in dem Vertrieb von in Büchsen konserviertem Material liegen würden, führten mich zu Versuchen über die Resorption des nach demselben Verfahren dargestellten, jedoch durch Behandeln mit Alkohol und Äther von dem größten Teil des Fettes befreiten, dann auf dem Wasserbade getrockneten und zu einem staubfreien Pulver zerriebenen, resp. gemahlenen Fleischalbuminates. Hierbei stieß ich auf die unerwartete Schwierigkeit, daß die Hunde das Präparat nur widerwillig aufnahmen. Es wurde einerseits nötig, die Nahrung komplizierter zu gestalten, um sie den Tieren annehmbarer zu machen, andrerseits gelang es auch nur einige Tage, die Hunde zur Aufnahme der Nahrung zu bewegen, die weitere Aufnahme wurde verweigert.

Zu allen Versuchen diente dasselbe Präparat. Ich führe die Daten nur kurz an.

Fütterungsversuch 2 (Fleischalbuminat trocken).

Hund von 10,990 kg Anfangsgewicht erhält am 14. 3. Schabefleisch mit Knochen zur Abgrenzung, fraß vom 16. 3. bis 20. 3. rund 175 g des Präparates, 200 g Speck, 160 g Reis, am 21. 3. wurde die Nahrungsaufnahme verweigert, am 22. 3. erhält er Knochenasche mit 100 g Fleisch zur Abgrenzung.

Kot im ganzen 23,5 g à 7,05 % N = 1,657 g N.

Ausnutzung des N.

N-Aufnahme:

1. 175 g Fleischalbuminat à 12,46 % N	=	21,80 g
2. 160 g Reis à 1 % N	=	1,60 g
3. 200 g Speck à 0,243 % N	=	0,486 g
	zusammen	23,891 g

Somit ausgenutzt 23,891 — 1,657 g N = 12,234 g = 93,07 %.

Das Körpergewicht betrug am Ende des Versuchs 10,530 kg, das Befinden ungestört, die Faeces waren trocken, geformt.

Fütterungsversuch 3 (Fleischalbuminat trocken).

Derselbe Hund, nachdem er einige Zeit knappe Kost bekommen hatte. Körpergewicht zu Beginn des Versuchs 9300 g. Am 3. 4. Fütterung mit 30 g Fleischalbuminat, 40 g Speck. Am 4., 5., 6., 7., 8. 4. je 30 g Reis, 40 g Speck und im ganzen

175 g Fleischalbuminat. Am 9. 4. Nahrungsaufnahme verweigert. Erhält gemischtes Futter mit Knochen. Faeces am 12. 4. entleert, gut abgegrenzt, 27,7 g trocken mit 6,42 $^0/_0$ N.

Allgemeinbefinden des Tieres gut, Körpergewicht am 9. 3. 9400 g, also 100 g Zunahme.

Ausnutzung des N.

N-Aufnahme:

1. 175 g Fleischalbuminat à 12,46 $^0/_0$ N	= 21,80 g
2. 150 g Reis à 1 $^0/_0$ N	= 1,50 g
3. 200 g Speck à 0,243 $^0/_0$ N	= 0,486 g
	23,791 g
davon ab N-Ausgabe in Kot 27,7 g à 6,42 $^0/_0$ N	= 1,79 g
also ausgenutzt	22,001 g
	= 92,14 $^0/_0$.

Fütterungsversuch 4 (Fleischalbuminat, trocken).

Körpergewicht bei Beginn des Versuchs 5915 g. Da der Hund das ebenso wie in den beiden Versuchen 2 und 3 zusammengesetzte Futter nicht fressen wollte, wurde versuchsweise mit Erfolg der Reis durch Weißbrod ersetzt. Am 19. 4. erhält der Hund 30 g Weißbrot mit Knochenasche, dann am 20. 4. und den folgenden Tagen bis zum 28. 4. inkl., also im ganzen 9 Tage lang, täglich 50 g Weißbrot, 40 g Speck und 20 g Fleischalbuminat. Am 28. 4. abends erhält der Hund reichlich Knochen und entleerte danach am 29. 4. gut abgegrenzten Kot, größtenteils Knochenkot, da unter dem Einfluß des hohen Fettgehaltes fast täglich Entleerungen erfolgten. Das Befinden des Tieres war während der ganzen Zeit gut, Körpergewicht am Ende des Versuchs 5870 g, also 48 g Abnahme, demnach fast konstant geblieben.

Ausnutzung des N.

N-Aufnahme in der Nahrung:

1. 180 g Fleischalbuminat à 12,46 $^0/_0$ N	= 22,428 g
2. 450 g Weißbrot à 1,50 $^0/_0$ N[1])	= 6,750 g
3. 360 g Speck à 0,243	= 0,815 g
zusammen	30,053 g

[1]) Frühere Analyse. Deutsche med. Wochenschr. 1896, Nr. 15.

	Übertrag 30,053 g
davon ab N-Ausgabe in den Faeces	
73 g à 3,960%	= 2,895 g
somit ausgenutzt	27,158 g
	= 88,95%.

In Anbetracht dessen, daß der N des Fleischalbuminates nur rund zwei Drittel des Gesamtwertes ausmachte, außerdem die Fettquantität wohl etwas zu groß war und daher häufige, stark fetthaltige Entleerungen eintraten, ist die Ausnutzung noch eine ziemlich gute zu nennen. Im ganzen hat sich die Ausnutzung des trockenen Fleischalbuminates, abgesehen von dem vorliegenden Versuch, als nur unbedeutend schlechter herausgestellt wie des feuchten in Versuch 1, nach dieser Richtung hin würde also die unbequemere feuchte Form keine Vorzüge vor der trockenen haben.

II. Versuche mit Eiweiß aus Blut.

Es ist nicht zweifelhaft, daß mit dem Blut der Schlachttiere, namentlich der Rinder, eine außerordentlich große Quantität wertvollen Eiweißmaterials für die Volksernährung verloren geht, denn was davon zu Wurst verarbeitet wird, ist nur ein verschwindender Bruchteil des ganzen beim Schlachten erhaltenen Blutes, außerdem wird zu Wurst meines Wissens nur Schweineblut verwendet. Der Versuch, aus Blut ein annehmbares billiges Eiweiß für die menschliche Ernährung herzustellen, erscheint daher durchaus nicht ungerechtfertigt.

Nun bestehen die Eiweißkörper des Blutes überwiegend aus Hämoglobin. Nach den Analysen von Abderhalden[1]) enthalten 1000 T. defibriniertes Schweineblut in den Blutkörperchen 142,2 T. Hämoglobin und 8,35 Eiweiß, im Serum nur 38,26 Eiweiß, 1000 T. Rinderblut 106,4 T. Hämoglobin und 15,38 Eiweiß, im Serum nur 46,41 Eiweiß. Das Hämoglobin weicht nun in seinen Eigenschaften sehr wesentlich von den Eiweißkörpern ab (Fr. N. Schulz[2]), es steht nach diesem den Histonen nahe, ja es wird nach seinen hydrolytischen Spaltungsprodukten von Abderhalden[3]) direkt zu den Histonen gerechnet.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 65.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 458.
[3]) Dessen Lehrbuch, 2. Aufl., S. 239.

Es steht daher keineswegs fest, daß es zur Ernährung ebenso geeignet ist, wie andere Eiweißkörper. Da es bei der Pepsinbehandlung nach den Angaben von Fr. N. Schulz, die ich durchaus bestätigen kann, sehr schnell in Körper von dem Charakter der Deuteroalbumosen oder Peptone übergeht, so liegt außerdem die Befürchtung nahe, daß es dünnflüssige Entleerungen bewirken könnte.

Es kommt außerdem in Betracht, daß das Hämoglobin sehr schwefelarm ist (0,425°/$_0$) und aus diesem Grunde zur Ernährung ungeeignet sein könnte. Gegen diese Erwägungen ist freilich geltend zu machen, daß viele Raubtiere sich ganz überwiegend von dem Blute der erlegten Tiere ernähren. Das Defizit an Schwefel muß also bei der Neubildung des spezifischen Arteiweißes durch erneute Verwendung der beim Stoffwechsel des Protoplasmas freiwerdenden Schwefelverbindungen ausgeglichen werden. Jedenfalls schien es mir nicht überflüssig, einen Fütterungsversuch mit Blutkörperchen und mit krystallisiertem Oxyhämoglobin anzustellen.

Fütterungsversuch 5 (mit Blutkörperchenbrei).

Zur Fütterung diente durch Senkung erhaltener und wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschener Blutkörperchenbrei (eine größere Zentrifuge stand mir damals nicht zur Verfügung) aus Rinderblut. Der Brei wurde mit Wasser aufgekocht, abfiltriert (das Filtrat war ganz oder nahezu eiweißfrei), abgepreßt und dann in einem breithalsigen Glasstöpselglas auf Eis aufbewahrt.

Dieser Brei enthielt im Mittel 6,86°/$_0$ N. Daß er im wesentlichen jedenfalls aus koaguliertem Hämoglobin bestand, geht aus dem Eisengehalt hervor. Derselbe berechnet sich für die Trockensubstanz zu 0,311°/$_0$ in naher Übereinstimmung mit dem Hämoglobin des Rinderblutes, das nach Hammarsten (Lehrbuch, 6. Aufl., S. 140) 0,336°/$_0$ Fe enthält.

Die Abgrenzung zu Beginn des Versuchs geschah mit Milch. Der Hund von 5800 g Körpergewicht verzehrte im Laufe von 6 Tagen (27. 1 bis 2. 2. 07) 425 g Coagulum, 280 g Weißbrot, 180 g Speck und entleerte durch Knochen gut abgrenzte Faeces = 14,5 g trocken.

Das Befinden des Tieres war gut, die Nahrungsaufnahme erfolgte z. T. nur zögernd und unregelmäßig. Körpergewicht am Schluß des Versuchs 5795 g, also gleich geblieben.

Ausnutzung des N.

N-Aufnahme:

1. 425 g Coagulum à 6,86 %	=	29,155 g
2. 200 g Weißbrot à 1,50 %	=	3,000 g
3. 240 g Speck à 0,243 %	=	0,583 g
zusammen		32,738 g
Abgabe in den Faeces 41,5 g à 6,53 %	=	2,710 g
Somit ausgenutzt		30,028 g = 91,72 %

Aus dem Versuch ist zunächst zu ersehen, daß die aus dem Hämoglobin im Magen und Darm hervorgehende Deuteroalbumose keine Durchfälle bewirkte, wenn die Entleerung des übrigens geformten Kotes auch fast täglich erfolgte, mit anderen Worten, daß das Hämoglobin vertragen wurde. Weiterhin kann man schließen, daß das Globin, ein Histon, an Stelle des Eiweißes treten kann, da es 6 Tage lang den einzigen oder fast einzigen N-haltigen Körper der Nahrung bildete und das Körpergewicht unverändert blieb.

Ich schließe hieran noch den Bericht über einen resultatlos verlaufenen Versuch mit krystallisiertem Oxyhämoglobin und Pferdeblut. Es sollte versucht werden, ob sich bei einem mit Fleisch und Speck gefütterten Hunde das Fleisch durch eine ebenso viel N enthaltende Quantität krystallisierten Oxyhämoglobins ersetzen ließe.

Das Oxyhämoglobin aus Pferdeblut war durch wiederholtes Aufschwemmen in alkoholhaltigem Wasser gereinigt, dann noch einmal aus Wasser unter Zusatz von Alkohol umkrystallisiert. Es wurde in Form eines feuchten, noch etwas Alkohol enthaltenden Breies auf Eis aufbewahrt.

Der Hund von 9900 g Körpergewicht erhielt vom 7. 2. bis 14. 2. täglich 250 g Rindfleisch und 50 g Speck, am 14. 2. wurde der Nahrung zur Abgrenzung reichlich feinpulverisierte Knochenasche beigemischt. Das Körpergewicht blieb fast unverändert (9920 g).

Der Hund sollte nun eine dem N-Gehalt des Fleisches ent-

sprechende Quantität Oxyhämoglobin bekommen. Da er indessen nicht zur Aufnahme der Nahrung zu bewegen war, so mußte zur Zwangsfütterung geschritten werden, teils durch Eingabe des Futters mit dem Löffel, teils durch Eingießen des gelösten, resp. aufgeschwemmten Hämoglobins mit der Schlundsonde. In letzterem Falle trat wiederholt Erbrechen ein, so daß der Versuch aufgegeben werden mußte. Zum Teil mag an dem Mißerfolge wohl der Alkoholgehalt des Oxyhämoglobins schuld sein. Es wäre wohl besser gewesen, das Oxyhämoglobin trocken zu geben, unbekümmert um den Übergang desselben in sog. Parhämoglobin.

Ich gehe nunmehr zu den mit den Gesamteiweißkörpern des Blutes angestellten Versuchen über.

Zur Darstellung des Fütterungsmaterials wurde folgendermaßen verfahren. Möglichst frisches defibriniertes Rinderblut wurde mit dem 5 bis 6fachen Volumen Wasser verdünnt, zuerst auf dem Wasserbad bis zur Koagulation erhitzt, dann unter Herstellung minimal saurer Reaktion mit Essigsäure auf freiem Feuer zum wallenden Sieden. Das Coagulum wurde nach einigem Abkühlen abkoliert, mit heißem Wasser wiederholt nachgewaschen, stark abgepreßt, mit Alkohol und Äther behandelt. Dies geschah nur zum Zweck der Trocknung, da das nicht so behandelte Coagulum beim Trocknen so hart wird, daß es nicht möglich war, dasselbe mit den mir zu Gebote stehenden Hilfsmitteln in ein so feines Pulver zu verwandeln, wie es zu den Fütterungsversuchen nötig ist, wenigstens nicht in den zu den Versuchen erforderlichen Mengen.

Fütterungsversuch 6 (Blutcoagulum).

Das angewendete Präparat enthielt im Mittel aus zwei Analysen 15,18 $^0/_0$ N.

Ein Hund von 5250 g Anfangsgewicht erhielt am 10. 6. nach voraufgegangener 2tägiger Milchfütterung zur Abgrenzung des Kotes ein aus 30 g des Präparates, 20 g Reis und 40 g Speck bestehendes Futter. Da sich am 11. früh noch Reste vorfanden, wurden diese nochmals vorgesetzt, dabei die Quantität des Eiweißpulvers auf 22,5 g herabgesetzt und gleichzeitig, um dem Tier das Futter annehmbar zu machen, 50 g Fleisch hinzugesetzt, so auch am 12. bis 15. inkl. Da das Präparat

knapp wurde, wurde dann die tägliche Quantität desselben auf 21,5 g herabgesetzt. Das Futter wurde stets aufgefressen. Am 19. erhielt der Hund zur Abgrenzung Milch. Das Befinden des Hundes war gut, das Körpergewicht stieg allmählich auf 5350 g, jeden Tag wurden schwarz gefärbte, geformte Faeces entleert.

Der Übersichtlichkeit wegen seien die Daten in betreff des Futters nochmals zusammengestellt.

Datum	Nahrungsaufnahmen in g			
	Bluteiweiß-präparat	Fleisch	Reis	Speck
10. 6.	30	0	20	40
11. bis 15. täglich	22,5	50	20	40
16. bis 18. „	21,5	50	20	40
Im ganzen	207	400	180	450

Die N-Ausnutzung gestaltet sich folgendermaßen.

Mit der Nahrung N aufgenommen:

1. 207 g Bluteiweiß à 15,18 % N = 31,42 g,
2. 400 g Fleisch . à 3,3 % N = 13,20 g,
3. 180 g Reis . . à 1 % N = 1,80 g,
4. 450 g Speck . . à 0,243 % N = 1,09 g,

zusammen 47,51 g.

N-Ausgabe in den Faeces:

58 g à 8,366 % N = 4,852 g,

Resorbiert 42,658 g = 89,78 %.

Zieht man in Betracht, daß die Nahrung fast $^1/_3$ des N in Form von Fleisch enthielt, dieses aber beim Hund zu zirka 97 % ausgenützt zu werden pflegt, so kann die Ausnutzung des Bluteiweißpulvers kaum als mittelgut bezeichnet werden. Darauf deutet auch schon der hohe N-Gehalt des Trockenkotes hin. Freilich kommt dabei in Betracht, daß der Kot außerordentlich viel Haare enthielt, die sich nicht mechanisch abtrennen ließen. Eine genaue Berechnung, wie hoch sich die Ausnutzung des Bluteiweißes selbst stellt, unterlasse ich, da es sich in den folgenden Versuchen zeigte, daß die Ausnutzung desselben, jedoch ohne Anwendung von Alkohol und Äther dargestellten Präparates eine weit bessere war.

Fütterungsversuch 7 (Blutcoagulum).

Das zu diesem Versuche dienende Präparat war nicht mit Alkohol und Äther behandelt, sondern in der Wärme getrocknet und dann mit einer Kugelmühle zu einem feinen Pulver gemahlen. Es war ferner nicht von mir selbst dargestellt, da die Herstellung so großer Mengen, wie sie zu diesem und dem folgenden Versuch erforderlich waren, mit den Hilfsmitteln des Laboratoriums nicht gut ausführbar gewesen wäre.

Die Analyse des mir in einer gut verschlossenen Blechbüchse zugegangenen Präparates ergab folgende Zusammensetzung für 100 Teile:

Eiweiß ($N \times 6,25$)	93,13,	
Wasser	5,98,	
Lecithin	0,64,	
Asche	0,78,	davon 0,34 Eisenoxyd,
	100,52.	

Hierzu sei noch folgendes bemerkt:

1. Daß die Summe der direkt bestimmten Bestandteile etwas über 100 beträgt, trotzdem Spuren von Fett nicht berücksichtigt sind, liegt daran, daß zur Berechnung des Eiweißes aus dem N-Gehalt = 14,90 der Faktor 6,25 benutzt ist, der für manche Eiweißarten, und namentlich für das Hämoglobin etwas zu hoch ist.

2. Das Präparat hinterließ beim Glühen eine durch Eisenoxyd rot gefärbte Asche. In dem kalten Auszug des Präparates selbst mit verdünnter Salzsäure war, auch nach Entfärbung desselben durch Wasserstoffsuperoxyd, nur äußerst wenig Eisen nachweisbar.

3. Unter „Lecithin" ist die in Alkoholäther lösliche, organische, phosphorhaltige Substanz verstanden, zuverlässig frei von phosphorsauren Salzen.

Zu dem Versuch diente ein sehr lebhafter Terrier von 6700 g Anfangsgewicht, nachdem derselbe am Tage vor dem Versuch eine reichliche Quantität feingeriebener Knochenasche mit ein wenig Fleisch erhalten hatte. Der Hund fraß das ihm gereichte Futter stets ganz auf, meistens sofort, nur am letzten Fütterungstage ließ er etwas Speck mit Spuren von Blutpräparat übrig. Das Befinden des Tieres war während der ganzen Zeit

— 14 Tage — vortrefflich, die Darmentleerungen äußerst spärlich, von schwarzer Farbe. Nach Abschluß des Versuches wurde durch ein reichliches, viel Knochen enthaltendes Futter dafür gesorgt, daß auch die letzten Reste des noch zur Fütterung gehörenden Kotes aus dem Darm entfernt wurden.

Das Körpergewicht betrug am Ende des Versuches, 24 Stunden nach dem letzten Versuchsfutter, 6825 g, war also um 125 g gestiegen.

Über die Nahrungsaufnahme gibt die folgende Tabelle Auskunft.

Datum	Nahrungsaufnahme in g			Körpergewicht
	Blut-präparat	Fleisch	Speck	
9. bis 13. 12. täglich	30	50	40	am 9. 6700 g
14.	35	50	50	
15. bis 21. täglich	40	25	45	am 16. u. 19. 6800 g
22.	40	25	40	
23.	0	0	0	6825 g
Im Ganzen	490	500	610	

Ausnutzung des Stickstoffs der Nahrung.

Aufgenommen in g:

1. Blutpräparat 490 g à 14,9 % N = 73,01 g N,
2. Fleisch . . 500 g à 3,3 % N = 16,50 g N,
3. Speck . . 610 g à 0,243 % N = 1,47 g N,

Im ganzen 90,98 g N.

Ausgeschieden: 55 g Kot à 6,52 % N = 3,586 g N,

Resorbiert 87,394 g N = 96,06 %.

Mit Rücksicht darauf, daß die Darmentleerungen ja zum Teil aus Sekretresten bestehen, kann man wohl sagen, daß die Nahrung, deren N zu fast $^5/_6$ aus dem Blutpräparat bestand, so gut wie vollständig ausgenutzt war. Daß sie auch imstande war, den Bedarf des Hundes an Eiweiß zu decken, geht aus der Dauer des Versuches, dem Körpergewicht und dem Befinden des Tieres hervor.

Der Harn wurde in diesem Versuch im Käfig gesammelt und durch Chloroformzusatz konserviert. Er war ganz klar, frei von Zucker und Eiweiß. Seine Quantität betrug 2360 ccm, der N-Gehalt 3,42 % = 80,71 g N im ganzen. Von dem re-

sorbierten N fehlen somit 6,68 g. Die angesetzten 125 g entsprechen in der üblichen Weise als Fleisch berechnet 4,25 g, es fehlen somit 2,43 g N, die als Verlust beim Sammeln des Harns im Käfig anzusehen sind.

Fütterungsversuch 8 (mit demselben Präparat).

Hund von 9720 g Anfangsgewicht. Der Versuch sollte möglichst lange ausgedehnt werden und die Nahrung nur aus dem Blutpräparat und Speck bestehen, mit Wasser unter Zusatz von etwas Kochsalz gekocht. Die Ausführung stieß auf Schwierigkeiten, da der Hund wiederholt, namentlich am Anfang nicht die ganze Quantität des ihm vorgesetzten Futters aufnahm und deshalb Änderungen in der Ernährung erforderlich wurden. Am 21. und 22. 1. 08 fraß er nur die Ration eines Tages, ebenso am 23. und 24. und 25. und 26, an diesen Tagen + 30 g Speck. Das Übriggelassene wurde ihm immer wieder, nachdem es aufgewärmt war, aufs neue vorgesetzt. Vom 24. ab erhielt der Hund täglich zur Nahrung, um ihm dieselbe schmackhafter zu machen, die filtrierte Abkochung von 100 g Fleisch, jedoch fraß er erst am 27. dies Futter vollständig auf und von da an ohne jede Schwierigkeit bis zum Schluß des Versuches, so daß er im ganzen 29 Tage so gut wie ausschließlich von dem Blutcoagulum als einzigem Eiweißkörper lebte. Das Sinken des Körpergewichtes bis auf 9300 g am 29. 1. zeigte, daß die Nahrung quantitativ nicht ausreichte, der Hund erhielt daher vom 2. 2. ab täglich 30 g Reis zugelegt. Das Körpergewicht stieg nunmehr und betrug am Schluß des Versuches, 24 Stunden nach der letzten Fütterung, 9800 g, also noch 80 g mehr als im Anfang. Da bei der langen Dauer des Versuches die Gefahr der Aschenverarmung vorlag, erhielt der Hund vom 31. 1. ab täglich 5 ccm einer Lösung, welche 10 g KH_2PO_4 in 100 ccm gelöst enthielt, mit kohlensaurem Natron neutralisiert.

Kotentleerung erfolgte anfangs sehr selten, nach Zulage des Reises häufiger. Am 17. 2. bekam der Hund zur Abgrenzung des Kotes 100 g Fleisch mit feingepulverter Knochenasche, des Abends noch eine reichliche Quantität gemischten Futters mit viel Knochen, um die Reste des Fütterungskotes aus dem Darm herauszuschaffen.

Bereits am 18. erfolgte Entleerung von Knochenfaeces mit Resten schwarzen Faeces, die sich leicht trennen ließen.

Die Faeces der ersten 4 Tage wurden für sich gesammelt und frisch für die Untersuchung auf Lecithin verwendet. Ihr Gewicht betrug 27,5 g. Diese kommen also für die Berechnung der Ausnutzung nicht in Betracht, ebenso natürlich nicht die aufgenommene Nahrung.

Im ganzen hat der Hund in 29 Tagen verzehrt 1270 g Blutpräparat, 1330 g Speck, 450 g Reis und die Fleischbrühe aus 2400 g Fleisch, davon kommen für die Berechnung der Ausnutzung nicht in Betracht, 100 g Blutpräparat und 150 g Speck. Die verzehrten Nahrungsmittel sind nachfolgend tabellarisch zusammengestellt.

Dabei ist der leichteren Übersichtlichkeit wegen Futter, das an zwei aufeinander folgenden Tagen verzehrt wurde, gleichmäßig auf beide Tage verteilt.

Datum	Quantität der verzehrten Nahrungsmittel			
	Blut-präparat	Speck	Reis	Brühe aus 100 g Fleisch
19. u. 20. 1. 03 täglich	30	50	0	0
21. u. 22. „	20	25	0	0
23.	25	25	0	0
24.	25	25	0	Fleischbrühe
25. u. 26.	25	40	0	„
27. I. bis 1. 2. täglich	50	50	0	„
2. 2.	50	50	30	„
3.	70	50	30	„
4. bis 16. inkl. täglich	50	50	30	„
Im ganzen in 29 Tagen	1270	1330	450	aus 2400 g Fleisch

Über die Aufnahme und Ausnutzung der Nahrung in 25 Tagen (der Kot der 4 ersten Tage ist, wie gesagt, für die Lecithinbestimmung benutzt) gibt die nachfolgende Tabelle Auskunft.

Eingeführt	Stickstoff	Fett	Kohlenhydrate
Blutpräparat . . 1170 g à 14,90 % N	174,31	—	—
Speck[1]) . . . . 1180 g à 0,243 % N	2,99	1062	—
Reis[2]) . . . . 450 g à 1,0 % N	4,5	2,7	337,5
Fleischbrühe 2400 ccm à 0,31 % N	7,44	—	—
Im ganzen	189,24	1064,7	337,5
Durch den Darm augeschieden	8,52	16,18	3,309
Also resorbiert	180,72	1048,52	334,19
Ausnutzung in Prozenten	95,5	98,48	98,98

Danach ist die Ausnutzung des Eiweißes fast so gut wie die des Fleisches. Über die Zahlen für Fett- und Amylumausnutzung habe ich folgendes zu sagen. Das von mir ausgeübte Verfahren zur Fettbestimmung[3]) halte ich für vollkommen genau, es gibt eher ein fehlerhaftes Plus. Die in 25 Tagen bei recht fettreicher Ernährung durch den Darm ausgeschiedene Quantität von ca. 16 g Fett ist jedenfalls sehr geringfügig.

Von der Genauigkeit der Amylumbestimmung in den Faeces bin ich, wenn es sich um sehr kleine Mengen von Amylum handelt, nicht so überzeugt, jedenfalls war die Quantität des Amylums sehr gering.

Die Untersuchung des an den 4 ersten Fütterungstagen gesammelten Kotes (27,5 g frisch) auf Lecithin lieferte ein fast ganz negatives Resultat. Aus dem ätherisch-alkoholischen Auszug wurde nur 0,0030 $Mg_2P_2O_7$ erhalten. Die Berechnung des Lecithins hieraus schien mir überflüssig.

So gut nun auch die Fütterungsversuche mit dem gepulverten Coagulum ausgefallen sind, so könnte bei der Anwendung beim Menschen doch vielleicht die braunrote Farbe ein Hindernis bilden — kein absolutes allerdings, da man sich ja auch an die dunkelbraune Farbe des Kakaos und die fast schwarze der Schokolade gewöhnt hat, immerhin wäre es angenehm gewesen, aus dem Blut ein womöglich gleichwertiges hellgefärbtes Präparat zu erhalten. Diese Entfärbung gelingt mit dem fertigen Coagulum nicht, es handelt sich also darum, das

[1]) Fettgehalt des Specks wurde fast genau zu 90 % gefunden.
[2]) Kohlenhydrate nach König zu 75 % gesetzt, Fettgehalt = 0,6 %.
[3]) Siehe hierüber die analytischen Belege im Anhange.

Blut vor der Koagulation zu entfärben. Als Entfärbungsmittel scheiden Chlor resp. Oxydationsstufen desselben von vorneherein aus, da den dabei erhaltenen Produkten stets ein unangenehmer Geschmack anhaftet. Kaliumpermangat ist nicht brauchbar wegen der Unmöglichkeit, das entstandene Mangansuperoxyd aus dem Eiweiß zu entfernen. Eher Erfolg zu versprechen schienen die Persulfate, namentlich aber Wasserstoffsuperoxyd und die Alkalisuperoxyde.

Die Entfärbung gelingt mit Kaliumpersulfat oder Ammoniumpersulfat in schwach saurer Lösung, jedoch nur unter Anwendung relativ großer Mengen von Persulfat. Der Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd stellen sich Schwierigkeiten entgegen. Die Entfärbung nach eingetretener Koagulation gelingt nur unvollständig, das Coagulum bleibt im Inneren stets unverändert. Die Entfärbung des Blutes selbst aber, vor der Koagulation, scheitert an der katalytischen Wirkung desselben: der größte Teil desselben wird zersetzt, die Entfärbung ist also minimal, außerdem ist das Verfahren technisch unausführbar wegen des enormen Schäumens. Die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch Blut wird allgemein einem in ihm enthaltenen Ferment der „Katalase" (von Senter Hämase genannt) zugeschrieben. Ich will hier die Frage unerörtert lassen, ob diese Ansicht ganz richtig ist, ob nicht vielmehr die Zersetzung mindestens zum Teil dem lebenden Protaplasma als solchem oder dem Hämoglobin zukommt, jedenfalls aber erschien es mir nicht aussichtslos, das Ferment oder das Protoplasma durch Erhitzen zu töten, ehe noch eine Gerinnung eintritt und das Wasserstoffsuperoxyd auf dieses erhitzte Blut einwirken zu lassen, auf das es nun seine volle entfärbende Wirkung äußern konnte, ohne der sofortigen Zersetzung zu unterliegen. Ich arbeitete dazu ein Verfahren aus, das auf der von mir gemachten Beobachtung beruht, daß die katalysierende Wirkung von verdünntem Blut durch Erhitzen auf 69 bis 70° mit Sicherheit aufgehoben wird, ohne daß dabei Koagulation eintritt.

Das Verfahren wird folgendermaßen ausgeführt:

200 ccm Rinderblut werden mit 1 l Wasser gemischt und in einer Schale auf dem Dampfbad unter stetem Umrühren erhitzt, wobei die Temperatur an einem in die Flüssigkeit gesenkten Thermometer genau beobachtet wird. Sobald die

Temperatur auf 69 bis 70° gestiegen ist, wird die Erhitzung durch Abnahme der Schale vom Dampfbad unterbrochen. Dabei hat die Lösung ihr Aussehen verändert: während sie vorher rein rot und durchsichtig war, ist sie nunmehr bräunlichrot geworden und erscheint nicht mehr durchsichtig, sondern leicht opalisierend.

Setzt man zu kleinen Proben dieser Flüssigkeit etwas Wasserstoffsuperoxyd, so verhalten sich dieselben ganz anders, wie vor der Erhitzung abgenommene Proben. In diesen bewirkt der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd sofort heftiges Aufschäumen, so daß meistens die Flüssigkeit überschäumt. Bei den Proben der, wie angegeben, erhitzten Flüssigkeit ist hiervon nichts zu bemerken, vielmehr findet eine Gasentwicklung überhaupt nicht statt, die katalysierende Wirkung des Blutes ist vollständig aufgehoben.

Unmittelbar nach dem Abnehmen vom Dampfbad wird die Flüssigkeit durch Wasserzusatz auf 50° abgekühlt, dann 60 ccm[1]) eines sog. 3 %, 10 Vol. O_2 entwickelnden Wasserstoffsuperoxyds, welches vorher mit 100 bis 120 ccm Wasser verdünnt ist, hinzugesetzt. Die Verdünnung hat den Zweck, die Verteilung des Wasserstoffsuperoxyds möglichst zu begünstigen, ist aber nicht durchaus notwendig. Es wird nun aufs neue auf dem Dampfbad erhitzt, wobei die anfangs bräunlich-rote Mischung sich mehr und mehr entfärbt und stärker trübt.

Bei fortschreitender Erhitzung scheidet sich allmählich das Eiweiß, gelblich gefärbt, aus. Verzögert sich die Ausscheidung in grobflockiger Form oder wird die zwischen den Flocken befindliche Flüssigkeit nicht ganz klar, so befördert man die Ausscheidung und das Zusammenballen in der üblichen Weise durch einen minimalen Säurezusatz. Das auskoagulierte Eiweiß wird abkoliert, mit warmem Wasser gewaschen, abgepreßt, schließlich durch Behandlung mit Alkohol und Äther gereinigt und getrocknet und so in Form eines gelblichen, staubigen Pulvers erhalten.

Ich bemerke noch, daß es nicht zweckmäßig ist, Wasserstoffsuperoxyd der auf 69° erhitzten Flüssigkeit selbst ohne vorherige Abkühlung hinzuzusetzen. In diesem Falle erfolgt

[1]) Später habe ich mehr, 90 bis 100 ccm, genommen.

eine intensive völlige Entfärbung an der Stelle, an welcher das Wasserstoffsuperoxyd hineingelangt, während eine so weitgehende Entfärbung nicht erforderlich ist. Rührt man dann um, so ist eine genügende Entfärbung nicht zu erreichen, weil der größte Teil des Wasserstoffsuperoxyds schon verbraucht ist. Außerdem findet bei dieser Temperatur an der Stelle, wo das Wasserstoffsuperoxyd hineingelangt, schon eine Koagulation statt. Kühlt man dagegen die Flüssigkeit ab, so läßt sich das Wasserstoffsuperoxyd in derselben gleichmäßig verteilen, ohne eine merkliche Wirkung auszuüben, die Entfärbung tritt erst bei erneutem Erhitzen und dann ganz gleichmäßig ein. Statt Wasserstoffsuperoxyd läßt sich natürlich auch Natriumsuperoxyd anwenden, das Verfahren erleidet dann einige leicht ersichtliche Modifikationen. Mit diesem Präparat, das — nebenbei bemerkt — Eisenreaktion mit Schwefelammonium und Salzsäure + Kaliumferrocyanid gibt, sind die folgenden Versuche angestellt.

Fütterungsversuch 9. (Entfärbtes Koagulum.)

Feuchtes Blutpräparat, in einer gut schließenden Blechbüchse auf Eis aufbewahrt. Körpergewicht des Hundes 36 kg. Die Nahrung bestand aus dem Präparat, Reis, Fett und Fleischextrakt. Der Kot wurde durch Knochenasche abgegrenzt. Trockengewicht desselben 153 g. Das Befinden des Tieres war gut, die Fäces geformt. Die Nahrungsaufnahme geht aus folgender Zusammenstellung hervor.

Datum	Nahrungsaufnahme in Gramm			
	Präparat	Reis	Speck	Fleischextrakt
23. 1.	100	30	30	4
24. 1.	150	45	45	4
25. 1.	180	45	45	4
26. 1.	180	45	45	4
Im ganzen	610	165	165	16

N-Aufnahme:

1. 610 g Präparat = 291,6 g trocken à 16 % N = 33,46 N
2. 165 g Reis . . . . à 1 % N = 1,65 N
3. 165 g Speck . . . . à 0,243 % N = 0,40 N
4. 16 g Fleischextrakt . . . . . à 9 % N = 1,44 N

Im ganzen 36,95 N

N-Abgabe durch den Kot:

153 g à 4,784 % = 7,319 g, also resorbiert 29,631 g, = 80,41 %.

In Wirklichkeit ist die Ausnutzung wohl etwas günstiger, da die N-Zufuhr von ca. 8,5 g pro Tag, namentlich in Anbetracht der geringen Quantität N-freier Nährstoffe augenscheinlich zur Erhaltung des großen Tieres nicht ausreicht, dasselbe sich also im partiellen Hungerzustand befand. Der entleerte Kot ist zum Teil als Hungerkot anzusehen. Außerdem ist der N-Gehalt des Trockenpräparates wohl etwas zu hoch veranschlagt.[1])

Fütterungsversuch 10. (Entfärbtes Koagulum.)

Da sich in einem Vorversuch gezeigt hatte, daß der Hund ein aus dem Eiweißpräparat, Speck und Reis gemischtes Futter schlecht fraß, wurde ein Teil des N in Form von Fleisch gegeben. An einigen Tagen wurde dasselbe auch fortgelassen. Das Futter wurde nur zögernd aufgenommen, aber doch vollständig, nur am 18. ließ der Hund etwas übrig, fraß es jedoch am nächsten Tage. Kotentleerung erfolgte fast täglich, war schwärzlich, häufig etwas dünn, so daß die Sammlung schwierig war und wohl auch nicht ganz ohne Verlust erfolgt ist.

Die Fütterung ist 21 Tage lang fortgesetzt, das Befinden des Hundes war gut, das Körpergewicht stieg von 4550 g am Anfang auf 4700 g am Ende (24 Stunden nach der letzten Fütterung und nach Kotentleerung).

Die Zahlen für die Nahrung sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

Datum	Nahrungsaufnahme in Gramm				Körpergewicht
	Präparat	Fleisch	Speck	Reis	
5. bis 7. tägl.	15	75	40	30	am 5. 4550 g
8.	30	0	40	30	
9. bis 11. tägl.	15	75	40	30	am 9. 4620 g, am 11. 4600 g
12.	30	0	40	30	
13.	30	50	40	30	
14. bis 24. inkl. tägl.	20	50	40	30	am 16. 4650 g, am 21. 4680 g, am 25. 4700 g
Im ganzen	400	1050	820	510	

[1]) Aus welchem Grunde ich in diesem Falle keine direkte N-Bestimmung im Präparat gemacht habe, ist aus den Protokollen nicht ersichtlich und mir auch nicht mehr erinnerlich.

Über die Ausnutzung der Nahrung gibt folgende Tabelle Auskunft.

Mit der Nahrung eingeführt	Stickstoff	Fett	Kohlenhydrate
400 g Präparat	58,60	—	—
1050 g Fleisch	34,65	nicht bestimmt	nicht bestimmt
820 g Speck	1,99	738	—
510 g Reis	5,10	3,06	382,5
Im ganzen	100,34	741,06	382,5
Durch d. Darm ausgeschieden	16,65	10,74	nicht bestimmbar
Resorbiert	83,69	730,32	fast alles
Ausnutzung in Prozenten .	83,41	98,55	—

Hierzu sei noch folgendes bemerkt.

Die N-Ausnutzung der aus dem Präparat, Fleisch, Reis und Fett gemischten Nahrung erscheint wenig günstig, noch etwas ungünstiger die des Bluteiweißpräparates für sich. Man kann sie annähernd erhalten, wenn man von der Gesamt-N-Einfuhr die des Fleisches abzieht und ebenso die diesem entsprechende N-Ausfuhr. Nehmen wir diese mit Rücksicht auf die Beigabe von Speck und Reis zu 5°/₀ an, was sicher nicht zu hoch, sondern eher zu niedrig ist, so erhalten wir: N-Einfuhr 100,34 minus 34,65 = 75,69 g. N-Ausfuhr 14,92 g, somit resorbiert 75,69 minus 14,92 = 60,77 g = 80,29°/₀. — Für die mangelhafte Resorption spricht auch der hohe N-Gehalt des Kotes = 10,74°/₀. Angesichts desselben kann man sogar zweifelhaft sein, ob die Aufsammlung des Kotes in der Tat vollständig gelungen ist. In auffallendem Gegensatz zu der mangelhaften Eiweißresorption steht die gute Ausnutzung des Fettes trotz sehr reichlicher Zufuhr und die noch bessere der Kohlenhydrate; ließ sich doch der Kohlenhydratgehalt der Fäces überhaupt nicht sicher bestimmen.

Fragen wir nun, welche Schlüsse sich aus den angeführten Versuchen für die Möglichkeit der Anwendung beim Menschen als Ersatz eines Teiles des Eiweißes der natürlichen Nahrung, speziell des Fleisches, ergeben, so muß von vornherein zugegeben werden, daß das Material hierfür insofern mit einiger Unsicherheit behaftet ist, als Versuche am Menschen überhaupt nicht vorliegen. Mit dem durch diese Verhältnisse bedingten Vorbehalt möchte etwa folgendes zu sagen sein.

Das entfärbte, getrocknete Bluteiweißpräparat dürfte kaum in Betracht zu ziehen sein, um so weniger, als ich in einem hier nicht berichteteten Fütterungsversuch damit unverändertes Präparat direkt in den Entleerungen nachweisen konnte. Die Fäces wurden zuerst mit Wasser extrahiert, der Rückstand mit verdünnter Natronlauge behandelt, filtriert, die alkalische Lösung mit Essigsäure gefällt. Der entstandene Eiweißniederschlag hatte durchaus dieselbe Beschaffenheit, wie das verfütterte Präparat. Es ist gewiß sehr bemerkenswert, daß die anscheinend so geringfügige Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds in noch nicht einmal ganz entfärbender Quantität genügt hat, um den Wert des Eiweißes als Nährstoff in erheblichem Grade herabzudrücken. Die Erscheinung ist um so auffallender, als sie in Widerspruch steht mit der leichten Verdaulichkeit des entfärbten Bluteiweißpräparates durch Pepsinsalzsäure, die wiederholt festgestellt wurde: die Verdauung erfolgte sehr schnell unter Bildung von primären und sekundären Albumosen, nur ein sehr kleiner Anteil blieb regelmäßig unverdaut.

Ebensowenig ist wohl an eine Verwendung des getrockneten syntoninähnlichen Fleischpräparates (oder Fleischalbuminates) zu denken, das außerdem stets einen etwas ranzigen Geschmack zeigte. Von den trocknen Präparaten kommt allein das gepulverte Coagulum aus Blut in Betracht, welches augenscheinlich sehr gut ausgenutzt und in Verbindung mit Fett und etwas Fleisch, ja auch ohne letzteres gut vertragen wird. Dies zeigt sich in dem Fütterungsversuch 7, der 14 Tage umfaßt, bei einer Nahrung, deren Eiweißgehalt zu mehr als $^4/_5$ aus dem Blutpräparat bestand. Noch beweisender ist der Fütterungsversuch 8, in welchem das Blutpräparat 29 Tage lang den einzigen Eiweißkörper darstellte neben den geringen kaum in Betracht kommenden Quantitäten Stickstoff, die im Speck, Reis und Fleischbrühe enthalten waren, das Eiweiß zu 95 % ausgenutzt wurde und das Körpergewicht (nach vorübergehendem Sinken infolge zu geringer Nahrungszufuhr) noch etwas anstieg. Auch die Ausnutzung von Fett und Kohlenhydraten ließ in diesem Versuch nichts zu wünschen übrig. Das Blutcoagulum ist selbstverständlich nach der Art seiner Herstellung steril und hygienisch völlig einwandfrei. Das einzige Bedenken, das man geltend machen kann, ist die Farbe.

In der trocknen Form unterscheidet sie sich nur wenig von der des Kakao und tritt keineswegs unangenehm hervor, anders dagegen in feuchtem Zustand beim Einrühren in flüssige Speisen: hierbei nimmt das Pulver unter manchen Verhältnissen einen schwärzlichen Farbenton an, welcher unangenehm berührt, so z. B. beim Einrühren von mit etwas Kakao gemischtem Präparat in Milch.

Immer aber werden pulverförmige Eiweißpräparate, welche sich nicht lösen[1]) und auch nicht quellen, nur von einer beschränkten Anwendbarkeit bleiben, die Zunge vermißt an ihnen die gewohnte weiche Beschaffenheit, in dieser Hinsicht sind die nicht getrockneten, daher weichen feuchten Präparate den Pulvern bei weitem überlegen. Bei den feuchten Eiweißkörpern erhebt sich aber die große Schwierigkeit der Konservierung. Sie ist natürlich ohne weiteres gelöst bei der Anwendung von zugelöteten Büchsen, die Frage ist nur, ob die Präparate dadurch nicht zu sehr verteuert werden. Bei dem Vertrieb in nicht zu kleinen Büchsen von mindestens $^1/_2$ kg dürfte indessen dieser Faktor in Anbetracht des sehr niedrigen Preises, zu welchem heute die Blechdosen im großen hergestellt werden, nicht zu schwer ins Gewicht fallen. Sieht man von sterilisierten, zugelöteten Konservenbüchsen ab, so erheben sich allerdings für die praktische Anwendung erhebliche Schwierigkeiten, die chwer zu überwinden sein würden.

Im Prinzip sind sie allerdings nicht vorhanden, denn das Fleisch ist in weit höherem Grade der Fäulniszersetzung unterworfen, als die feuchten Blut- und Fleischpräparate. Das ist selbstverständlich, denn diese sind ja bei der Darstellung sterilisiert. Sie halten sich, kühl aufbewahrt, ca. 8 Tage genießbar. Für das praktische Leben aber würde sich die große Frage erheben, welche Geschäfte den Vertrieb dieser feuchten Präparate übernehmen sollten, der außerdem wohl nur an dem Ort der Fabrikation stattfinden könnte. Allenfalls könnte der Vertrieb durch die Nahrungsmittelgeschäfte geschehen, zweckmäßig aber nur an den Stellen, die auf die Konservierung leicht zersetzlichen Ernährungsmaterials eingerichtet sind. Ob diese

---

[1]) „Lösen" in wissenschaftlichem Sinne, nicht in dem Sinne, in dem der Handel und das Publikum von „löslichem Kakao" spricht.

sich zur Übernahme eines Konkurrenzartikels bereitfinden lassen würden, ist freilich sehr zweifelhaft.

Würde nun das Blutpräparat oder das Fleischpräparat in feuchtem Zustand Vorzug verdienen?

Gegen das Blutpräparat spricht die Abneigung des Publikums gegen Blut und alles, was mit dem Blut in Zusammenhang steht und seinen Ursprung noch deutlich dokumentiert, für dasselbe, daß nur diese Quelle in reichlichster Menge zur Verfügung steht.

Gegen das Fleischpräparat spricht, daß das Ausgangsmaterial lediglich das überseeische ist und dieses nur in einem Zustande zu erhalten ist, in dem es nicht ganz frei von etwas ranzigem Geschmack ist. Für dasselbe, daß es, als aus Fleisch stammend, den Vorstellungen und Lebensgewohnheiten des Publikums mehr entgegenkommen würde. Eine Fleischkonserve würde jedenfalls leichter einzuführen sein, als eine Blutkonserve. Der Vorwurf des ranzigen Geschmacks kommt ganz in Fortfall, wenn die Fleischrückstände frisch verarbeitet werden, was in praxi aber wohl kaum in Frage kommen kann. Er fällt aber auch dann ganz in Fortfall, wenn die bei der Herstellung des Fleischextraktes gebliebenenen Rückstände nicht getrocknet, sondern in feuchtem Zustand mit einer angemessenen Quantität Salzsäure versetzt und so versendet werden. Daß dies möglich ist, habe ich festgestellt, wenn auch nur in sehr kleinem Maßstabe. Gleichzeitig unterscheiden sich die mit Salzsäure konservierten Fleischrückstände von den getrockneten sehr vorteilhaft dadurch, daß die Herstellung des Fleischpräparates (Fleischalbuminates) aus ihnen außerordentlich leicht ist, sehr viel leichter, als aus den getrockneten. Man könnte sogar daran denken, die Herstellung des Fleischpräparates aus den ziemlich unbegrenzt, jedenfalls sehr lange, haltbaren angesäuerten und in Holzgefäßen versendbaren Fleischrückständen direkt in die Küchen des Haushaltes zu verlegen, deren Utensilien für diesen Zweck ausreichen. Gar keine Schwierigkeit würde dieses in den großen auf Massenverpflegung berechneten Anstaltsküchen verschiedener Art machen. Die Verwertung des überseeischen Fleischreichtums wäre dann in ähnliche Bahnen gelenkt, wie die eines großen Teils der Milch bei uns. Wie diese in die für die wohlhabenderen Bevölke-

rungsschichten bestimmte Butter und in die für den Konsum minder Begüterter dienende Magermilch (wo die Anwendung einer solchen zulässig erscheint) zerlegt wird, so würde auch bei dem überseeischen Fleisch eine solche Teilung in Fleischextrakt und Eiweißkörper zu demselben Zweck eintreten. Damit wäre erst die Frage, wie sich der Fleischreichtum von Südamerika für die europäische Bevölkerung verwerten läßt, die sich einst Liebig stellte, gelöst, denn niemand wird heute in Abrede stellen, daß die Herstellung des Fleischextrakts allein keine Lösung der Aufgabe darstellt, geht dabei doch der bei weitem wertvollere Teil des Fleisches, die Eiweißkörper, für die Volksernährung verloren. Die Liebig's Extract of Meat Company würde sich ein großes Verdienst erwerben, wenn sie an die Lösung dieser Aufgabe heranträte.

Zweiter Teil.

Eiweiß vegetabilischen Ursprunges.

Die Herstellung von Eiweißpräparaten aus Pflanzensamen zu Genußzwecken ist vielfach versucht worden, auch nicht ohne Erfolg; der Erfolg ist aber doch nur ein teilweiser gewesen. Dauernd eingeführt haben sich, soviel ich weiß, nur zwei derartige Eiweißpräparate, das Roborat und das Aleuronat[1]) beide aus Weizenmehl bei der Verarbeitung desselben auf Amylum als Nebenprodukt erhalten, das Roborat unter Anwendung von Chemikalien, das Aleuronat ausschließlich durch mechanische Bearbeitung des im Weizenmehl enthaltenen Klebers. Während die Anwendung des Roborats lediglich eine diätetische geblieben ist, als solche zweifellos oft gute Dienste leisten mag, findet das Aleuronat, soviel ich weiß — entprechend seinem niedrigeren Preise —, auch Anwendung für die allgemeine Ernährung, namentlich in Form von Backwaren, die für dasselbe insofern die geeignetste ist, als das Aleuronat selbst einen den meisten Personen nicht angenehmen Geschmack hat.

Meine Versuche über einige pflanzliche Eiweißkörper liegen z. T. sehr weit zurück und sind z. T. zu einer Zeit angestellt,

---

[1]) Zum Teil ist hierher auch das Tropon zu rechnen, das nach Angaben in der Literatur, soweit mir erinnerlich ist, zu $^1/_3$ aus animalischen, zu $^2/_3$ aus pflanzlichem Eiweiß bestehen soll.

als man noch nicht allgemein der Ansicht war, daß das vegetabilische Eiweiß an sich ganz denselben Nährwert habe, wie das animalische. Die ersten entscheidenden Versuche hierüber sind, soviel ich weiß, von Constantinidi[1]) unter Voit an Aleuronat und von A. Loewy und M. Pickart[2]) an Roborat angestellt. Es kann indessen sein, daß schon ältere Versuche hierüber vorliegen; ich möchte bei dieser Gelegenheit ganz allgemein bemerken, daß es mir bei dem großen Umfang des Gegenstandes nicht möglich war, die Literatur eingehend zu berücksichtigen, dies lag auch nicht in meiner Absicht, es kam mir hauptsächlich darauf an, durch eigene Versuche ein Urteil über die betreffenden Eiweißkörper zu gewinnen.

Ich gehe nun zur Mitteilung meiner Versuche über, die nicht in demselben Umfange angestellt sind wie bei den animalischen Eiweißkörpern.

Fütterungsversuch 11 (Eiweiß von Pferdebohnen, Vicia faba minor).

Das Präparat war mir zur Prüfung übergeben worden. Von der Darstellung ist mir nur bekannt, daß sie sich im allgemeinen der von Ritthausen in seinem bekannten Buche über die Eiweißkörper der Getreidearten usw. angegebenen Methode[3]) zur Darstellung des Legumins (Extraktion mit schwacher Kalilauge, Fällung mit Essigsäure) anschloß. Das Eiweiß stellte ein weißes, staubfeines, etwas nach Alkohol riechendes, in Wasser unlösliches Pulver dar. Der heiße wässerige Auszug färbte sich nach dem Erkalten mit Jodlösung himmelblau, mikroskopisch habe ich Amylum nicht entdecken können, das Präparat enthielt also wohl nur lösliches Amylum und auch dieses nur in geringer Quantität. Beim Schütteln mit Äther gingen in diesen Spuren von Fett über. In Pepsinsalzsäure löste sich das Eiweiß mit großer Leichtigkeit. Leider reichte bei der langen Dauer des Versuches die zuerst übersendete Quantität nicht aus, so daß noch eine zweite, weit wasserärmere in Anwendung gezogen werden mußte. Die erste Quantität enthielt

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 23, 433.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1900, 821.
[3]) l. c., S. 172.

11,32 % Wasser, 1,04 % Asche und 12,12 % Stickstoff, die zweite Quantität enthielt 14,89 % N.

Der Hund wurde am 28./2. 1895 zum Versuch genommen, nachdem er am 27. Knochen zur Abgrenzung erhalten hatte. Das Körpergewicht war am Anfang des Versuches 4990 g, am Ende des Versuches, 24 Stunden nach der letzten Fütterung, 5370 g, hatte also um 380 g zugenommen.

Das Futter bestand aus dem Eiweißmehl, Speck, Reis, 4 g Fleischextrakt und 4 ccm gesättigter Kochsalzlösung[1]) täglich. Der Versuch dauerte 21 Tage und konnte ohne jede Störung durchgeführt werden. Das Befinden des Hundes war in der ganzen Zeit sehr gut. Kotentleerung erfolgte in Zwischenräumen von einigen Tagen, stets fest. Der Kot wurde in zwei Anteilen gesammelt. Der erste von 5 Tagen = 33,6 g trocken mit 4,08 % N, der zweite in 16 Tagen = 145 g trocken mit 4,97 % N. Am 20. abends erhielt der Hund Knochen, der am 21. entleerte Kot gehörte noch ganz überwiegend zum Versuch. Am 21. wurden reichlich Knochen gegeben, die Entleerung am 22. bestand nur aus Knochenkot.

Die Einzelheiten betreffs Nahrungsaufnahme und Körpergewicht sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Datum	Nahrungsaufnahme in g			Körpergewicht und Bemerkungen
	Eiweiß	Speck	Reis	
28./2.	40	40	40	4990 g Futter nicht ganz aufgefressen
1./3.—6./3. inkl. tägl. .	35	35	35	am 6. 3. 5050 g
7./3.—13./3. „ „ .	45	40	35	am 11. 5250 g
14./3.—16./3. täglich .	45	40	35	5340
17./3.	45	40	35	5380
18./3.	45	40	35	5360
19./3.	45	40	35	5390
20./3.	45	40	35	5400
21./3.	0	0	0	5370
Im ganzen	845	810	740	

Die Ausnutzung des Stickstoffes berechnet sich folgendermaßen:

[1]) 20 g Fleischextrakt und 20 ccm gesättigte Kochsalzlösung aufgefüllt zum Vol. von 100 ccm, davon täglich 20 ccm.

N-Einfuhr:

1.	450 g	Eiweiß I	à 12,72 % N =	57,24
2.	395 g	Eiweiß II . . .	à 14,89 % N =	58,82
3.	740 g	Reis	à 1 % N =	7,40
4.	810 g	Speck	à 0,243 % N =	1,97
5.	84 g	Fleischextrakt .	à 8,81 % N =	7,40
			Im ganzen	132,83 g

Durch den Darm ausgeschieden sind 7,51 g, also resorbiert 125,32 g = 94,37 % bei einer Nahrung, deren N zu mehr als $^5/_6$ in Form von Pflanzeneiweiß gereicht wurde.

Der Harn war im Käfig gesammelt und mit Chloroform konserviert. Harnmenge 4190 ccm, N-Gehalt 2,814 % = 117,91 g. Da 125,32 g resorbiert waren, so fehlen von den resorbierten g N 7,41 g. Das Defizit ist zum Teil auf Fleischansatz = 252 g zu beziehen, aber wenn man selbst annehmen wollte, daß der Harn ohne Verlust gesammelt ist, was sicher nicht ganz zutrifft, würde die Gewichtszunahme nicht vollständig auf Fleischansatz bezogen werden können.

Fütterungsversuch 12 (Aleuronat).

Aleuronat ist bekanntlich ein Phantasiename für ein im wesentlichen aus Klebereiweiß bestehendes Präparat, das als Nebenprodukt bei der Fabrikation von Weizenstärke in der Fabrik von Hundhausen in Hamm gewonnen wird und natürlich noch Amylum enthält. Die Darstellung ist lediglich mechanischer Natur, indem der Kleber zwischen erhitzten Walzen getrocknet und dann pulverisiert wird. Chemikalien kommen dabei nicht in Anwendung.

Das verwendete Präparat hatte folgende Zusammensetzung:

Eiweiß (12,95 % × 6,25)	80,94[1]
Wasser	5,84
Asche	1,07
Fett	1,86
Amylum	9,10
Rohfaser	0,33
Verlust und nicht Bestimmtes . .	0,86
	100,0

[1]) Die Zusammensetzung ist nur wenig abweichend von der von Constantinidi (Zeitschr. f. Biol. 23, 436) angegebenen; in 100 Teilen der bei 100° getrockneten Substanz fand C. Stickstoff 13,71, Fett 0,27, Stärkemehl 7,01, Cellulose 0,45, Asche 0,78. C. hatte wohl ein etwas sorgfältiger hergestelltes Präparat in Händen.

Ein Hund von 5900 g Körpergewicht erhielt nach Abgrenzung des Kotes am 5. XII. 1901 zum erstenmal Aleuronat, am 18. XII. zum letztenmal, der Versuch dauerte also 14 Tage. Das Körpergewicht betrug am Ende des Versuches 5850 g, war also fast konstant geblieben.

Datum	Nahrungsaufnahme in g		
	Aleuronat	Speck	Fleisch [1]
5. XII. 1901	30	40	50
6. XII.—8. XII. inkl. täglich .	40	40	50
9. XII.	50	40	50
10. XII.—17. XII. inkl. täglich	60	40	50
18. XII.	50	40	50
Im ganzen	730	560	700

Das Befinden des Hundes war durchaus gut, die Faeces trocken, schwarz, pechartig. Entleerungen erfolgten nur 4 mal während des Versuches, im ganzen 70 g trocken mit 6,09 % N. Um die noch im Darm enthaltenen Faeces herauszubefördern, wurden am 19. XII. reichlich Knochen gegeben, am 20. fanden sich deutlich abgegrenzte Faeces.

Ausnutzung der Nahrung.

Mit der Nahrung eingeführt	Stickstoff	Fett	Kohlenhydrate
730 g Aleuronat	94,54	13,58	66,43
700 g Fleisch	23,10	nicht bestimmt	nicht bestimmt
560 g Speck	1,36	504	—
Im ganzen	119,0	517,58	66,43
Durch den Darm ausgeschieden	4,32	21,65	nicht nachweisbar
Resorbiert	114,68	495,93	fast alles
Ausnutzung in Prozenten .	96,37	95,82	fast 100

Das Aleuronateiweiß ist also bei einer Nahrung, die $^4/_5$ des eingeführten Eiweißes in dieser Form enthielt, bis auf einen geringen Bruchteil, man könnte beinahe sagen, so gut wie vollständig und kaum weniger gut wie das Eiweiß des Fleisches, ausgenutzt worden, selbst in relativ sehr großen Quantitäten,

[1]) Fleisch mußte beigegeben werden, weil der Hund ohne dieses das Futter nicht fraß.

wie sie 60 g pro Tag (im Maximum) darstellen, es ist ferner 14 Tage hindurch gut vertragen worden und zweifellos vollwertig gegenüber dem Eiweiß des Fleisches. Auch die Ausnutzung des Amylums und Fettes muß als sehr gut bezeichnet werden.

Fütterungsversuche mit Aleuronat sind schon wiederholt ausgeführt worden, allerdings nur solche von kürzerer Dauer. Für den Hund liegt ein unter Voit ausgeführter Versuch von Constantinidi[1]) vor. Der Hund von C. fraß das Aleuronat mit Speck allein ohne Fleischzusatz. Es wurde fast noch besser ausgenutzt als in meinem Versuch: In einem 3tägigen Versuche an einem Hund von 24 kg bei 100 g täglich zu 96,5%, in einem 5tägigen Versuche an demselben Hund bei 200 g sogar zu 97,4%. Auch für den Menschen liegen Ernährungsversuche vor. Zunächst ein gleichfalls von Constantinidi angestellter 3tägiger Versuch. Die Ausnutzung betrug 93,6% bei 200 g Aleuronat, 1700 g Kartoffeln und 100 g Butter täglich, während bei derselben Kost ohne Aleuronat nur 81,5% N zur Ausnutzung gelangten. Ein von C. Virchow[2]) angestellter Versuch am Menschen hatte gleichfalls ein sehr günstiges Resultat. In allen Versuchen ergab sich das Pflanzeneiweiß als dem Fleischeiweiß ganz gleichwertig. Schon früher haben sich Voit und Ebstein[3]) günstig über das Aleuronat ausgesprochen.

Fütterungsversuch 13 (mit Pferdebohnenmehl).

Hund von 6920 g Anfangsgewicht. Abgrenzung des Kotes durch Fleisch und Knochenasche. Das Mehl wurde mit Speck gebraten, da es nur in dieser Form willig aufgenommen wurde.

Der Versuch umfaßte 8 Tage, vom 11. VII. 1900 inkl. bis 18. VII. inkl. An allen Tagen erhielt der Hund 30 g Speck. Dazu am 11. und 12. je 50 g Pferdebohnenmehl, am 13. 100 g, am 14., 15., 16., 17., 18. je 75 g. Das Befinden des Tieres war durchaus gut, das Körpergewicht betrug am Ende des Versuches 6820 g. Die Faeces waren geformt, Kotentleerung erfolgte täglich (am ersten Tage Knochenkot), trotzdem erhielt der Hund am 19. zur Abgrenzung noch Knochen. Die Ab-

[1]) Zeitschr. f. Biol. 23, 433, 1887.
[2]) Allgem. med. Centralzeitg. 71, Nr. 51, 1902.
[3]) Vgl. Malys Jahrb. f. 1893, 23, 431 u. 512.

grenzung war gut. Der Kot im Gesamtgewicht von 74 g trocken enthielt viel Amylum, roch beim Erhitzen mit Wasser stark nach Bohnen.

Ausnutzung des Stickstoffs.

Mit der Nahrung eingeführt:

1. 575 g Pferdebohnenmehl	à 4,36 °/₀ N =	25,07 g N
2. 240 g Speck	à 0,243 °/₀ N =	0,58 g N
	Zusammen	25,65 g N
	N durch den Darm ausgeschieden	2,75 g N
	Somit resorbiert	22,90 g N = 89,28 °/₀.

Die relativ gute Ausnutzung des Eiweißes aus dem Mehl ist gewiß sehr bemerkenswert.

Nach diesen Versuchen scheinen mir die Aussichten, zu einem zu allgemeiner Anwendung geeigneten pflanzlichen Eiweiß zu gelangen, nicht eben groß. Die Anwendung von Alkohol und Äther, welche zur Entfernung des Fettes und zur Verbesserung des Geschmackes erforderlich sind, bringen notwendig eine solche Verteuerung des Produktes mit sich, daß es mit dem im Fleisch enthaltenen Eiweiß nicht erfolgreich konkurrieren könnte. Selbstverständlich ist eine Konkurrenz eines Eiweißpulvers mit dem Fleischeiweiß nur dann denkbar, wenn der Preis wesentlich niedriger ist als der des Fleischeiweißes. Erreicht ist dieses beim Aleuronat, von dem das Kilo im Kleinhandel zu 2,90 M. zu haben ist, das Eiweiß also, wenn man einen Eiweißgehalt von 80 °/₀ zugrunde legt, zu 3,60 M., während 1 kg Eiweiß im Fleisch kaum unter 7,50 M. zu haben sein möchte. Der Geschmack des Aleuronats läßt aber für die meisten Personen nur eine beschränkte Anwendung in Form von Backwaren usw. zu. Wesentlich teurer stellt sich, nebenbei bemerkt, das Tropon, von dem das Kilo 5,40 M. kostet[1]). Hier ist die Preisdifferenz nicht mehr groß genug, um für das Publikum einen genügenden Anreiz zur Verwendung zu bieten. Immerhin ist es auffallend, daß unter Verhältnissen, in denen es auf besondere Billigkeit der Ernährung ankommt

---

[1]) Preise für Aleuronat und Tropon nach der Preisliste von Kahlbaum.

und die Wahl der Nährstoffe nicht von dem Konsumenten, sondern von den Verwaltungsbehörden abhängt, von diesem und dem Aleuronat nicht mehr Gebrauch gemacht wird, wenigstens ist mir nicht bekannt, daß dieses in umfangreicher Weise geschieht.

Bei dem konsumierenden Publikum spielt übrigens noch ein Faktor eine wichtige Rolle, das ist die mangelnde Einsicht in die Zusammensetzung und den Nährwert der Nahrungsmittel. Wenn jemand z. B. 1 kg knochenfreies Fleisch kauft, denkt er nicht daran, daß darin rund 800 g Wasser und nur 200 g Eiweiß sind, und zahlt dafür weit eher 2 M., als daß er für 1 kg Aleuronat mit 800 g Eiweiß 2,90 M. gibt, er würde, wenn er den Tatbestand sich vergegenwärtigte, vielleicht von den Vorzügen des Fleisches im Interesse der größeren Billigkeit absehen. Mit anderen Worten: der Preis an sich pro Kilo ohne Rücksicht auf die Zusammensetzung spielt bei dem kaufenden Publikum eine sehr große Rolle. Außerdem würde dasselbe, wenn man ihm ein Eiweißmehl anbietet, unwillkürlich den im Verhältnis außerordentlich niedrigen Preis von Weizenmehl als Maßstab anlegen und den Preis für das Eiweißmehl übertrieben und unverständlich hoch finden. Darum würde es, meiner Ansicht nach, auch eher möglich sein, ein feuchtes Eiweißpräparat einzuführen als ein trocknes Pulver.

Einen Punkt müßte man übrigens bei dem Versuch, billiges Eiweiß einzuführen, im Auge behalten: man dürfte sich womöglich nicht auf ein einziges Eiweißpräparat beschränken. Einem solchen haftet doch immer ein, wenn auch nur schwacher, Geschmack nach dem Ausgangsmaterial oder eine ganz bestimmte Eigenschaft an, bei fortgesetztem Gebrauch eines und desselben Präparates würde daher der Konsument desselben wahrscheinlich bald überdrüssig werden.

Die Tabelle auf Seite 122 enthält eine Übersicht über die in den Versuchen erzielte Ausnutzung des Stickstoffs nebst einigen anderen für die Beurteilung in Betracht kommende Angaben.

Es schien mir noch von Interesse, zu sehen, wie sich in den Versuchen das Verhältnis der Calorien aus den N-haltigen und N-freien Nährstoffen stellt, dabei ist noch folgendes zu bemerken:

Nr. des Versuches	Dauer in Tagen	Verfüttertes Eiweißpräparat	Stickstoffgehalt des Futters a) im Präparat	b) im Beifutter	c) im ganzen	Der N des Präparates beträgt vom Gesamt-N Prozente	Vom Gesamt-N ist resorbiert g	%	Körpergewicht in kg am Anfang	am Ende des Versuches	Differenz der Körpergewichte
1	5	Fleischalbuminat, feucht	77,774	1,215	78,989	98,46	73,942	93,62	35,750	35,370[1]	— 380
2	8	Fleischalbuminat, trocken	21,805	2,086	23,891	91,27	22,23	93,07	10,990	10,530	— 460
3	5	Dasselbe Präparat	21,805	1,986	23,791	91,65	22,00	92,47	9,300	9,400	+ 100
4	9	Dasselbe Präparat	22,420	7,625	30,05	74,6	27,15	88,95	5,915	5,870	— 45
5	6	Blutkörperchen, etwas alkoholhaltig	29,155	3,583	32,738	89,06	30,03	91,72	5,800	5,795	— 5
6	9	Blutcoagulum, trocken	31,42	16,09	47,51	66,15	42,66	89,78	5,250	5,350	+ 100
7	15	Blutcoagulum, trocken, anderes Präparat	73,01	17,97	90,98	80,25	87,39	96,06	6,700	6,825	+ 125
8	29	Dasselbe Präparat	174,31	14,93	189,24	92,14	180,72	95,55	9,720	9,800	+ 80
9	4	Entfärbtes Blutcoagulum, feucht	33,46	3,49	36,95	90,56	29,53	80,14	36,000	?	?
10	20	Entfärbtes Blutcoagulum, trocken	58,60	41,74	100,34	58,40	83,69	83,41	4,550	4,700	+ 145
11	22	Eiweiß aus Pferdebohnen, trocken	116,06	16,77	132,83	87,38	125,32	94,37	4,990	5,370	+ 380
12	14	Aleuronat	94,54	24,46	119,00	79,45	114,68	96,37	5,900	5,850	— 50
13	8	Pferdebohnenmehl	25,07	0,58	97,74	97,74	22,90	89,28	6,920	6,820	— 100

[1]) Das Endgewicht ist stets 24 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme bestimmt, das Gewicht des später noch entleerten Versuchskotes (frisch) in Abzug gebracht.

Nummer des Versuches	Calorien aus Eiweiß EK	Calorien aus Nichteiweiß NEK	Summe der Calorien GK	Verhältnis von EK:NEK = 1:	EK betragen in Proz. von GK
1	2025	4185	6210	2,07	32,60
2	612	2166	2778	3,54	22,04
3	608	2135	2743	3,51	22,18
4	770	3934	4704	5,11	16,37
5	839	2433	3272	2,90	25,64
6	1217	3767	4136	3,40	29,44
7	2331	5106	7437	2,19	31,35
8	4849	9727	14576	1,92	33,27
9	910	1889	2799	2,08	32,15
10	2571	8431	11002	3,28	23,33
11	3214	9051	12365	2,82	25,99
12	3049	5087	8136	1,66	37,48

1. Der Einfachheit halber ist in den Versuchen, in denen Fleisch zur Anwendung kam, der Stickstoff desselben $\times$ 6,25 = Eiweiß gesetzt. Das ist, streng genommen, allerdings nicht ganz richtig, die Differenz ist aber nur unbedeutend. Dagegen schien es mir nicht richtig, den Stickstoff des Fleischextraktes, der in den Versuchen 10 und 11 dem Futter beigegeben wurde, zu berücksichtigen. Derselbe ist vielmehr von dem Gesamt-N in Abzug gebracht.

2. Der Berechnung sind die von Rubner eingeführten Zahlen für Eiweiß = 4,1, Fett 9,3, Kohlehydrate 4,1 zugrunde gelegt. Dieselben gelten allerdings eigentlich nur für den Menschen, werden aber auch für den Hund einigermaßen zutreffend sein.

3. Da es vielfach üblich ist, die Eiweißcalorien in Prozenten der Gesamtcalorien anzugeben, so ist neben dem Verhältnis Eiweißcalorien: Nichteiweißcalorien auch diese Prozentzahl berechnet worden.

4) Selbstverständlich handelt es sich durchweg nur um Annäherungswerte.

Die Berechnung für 13 ist nicht ausgeführt, da die Unterlagen zur Berechnung in diesem Fall bei der augenscheinlich schlechten Ausnutzung des Amylums nicht ausreichend vorhanden waren.

Aus der Tabelle geht hervor, daß das Verhältnis aus Eiweißcalorien zu Nichteiweißcalorien, resp. die Prozentzahl der Eiweißcalorien bezogen auf die Gesamtcalorien in den Versuchen innerhalb weiter Grenzen schwankte. Dies war nicht beabsichtigt, hat sich vielmehr zufällig ergeben, abhängig von der Möglichkeit, dem Hunde nur kleinere oder, was eigentlich beabsichtigt war, große Mengen des betreffenden Eiweißpräparates beizubringen. Die Fälle mit geringerer Eiweißcalorienzahl sind indessen insofern nicht unwichtig, als diese Fälle eher eine Übertragung auf die menschliche Ernährung zulassen.

In der bei Stoffwechselversuchen am Hunde üblichen Nahrung ist der Prozentgehalt der Eiweißcalorien sehr hoch. Hunden gibt man wohl mindestens 5 Mal soviel Fleisch als Speck (z. B. 500 Fleisch, 100 Speck). Das Verhältnis von Eiweißcalorien zu Nichteiweißcalorien berechnet sich hierbei (Fettgehalt des Specks = 90 % gesetzt) = 1:2,15 resp. die Prozentzahl zu 31,70. Diese Prozentzahl ist nur in Versuch 12 mit Aleuronat noch überschritten (37,48), in allen anderen Versuchen liegt sie in der Nähe dieser Zahl oder sie ist geringer, zum Teil erheblich geringer, am geringsten in Versuch 4 (mit Fleischalbuminat), wo sie nur etwa die Hälfte beträgt und ungefähr mit der Prozentzahl der Eiweißcalorien beim Menschen übereinstimmt, wenn man die Voitschen Standardzahlen von 118 Eiweiß, 56 Fett und 500 Kohlehydrate zugrunde legt = 17,5 % Eiweißcalorien. Bei eiweißarmer Kost stellt sich diese Zahl freilich erheblich niedriger, so bei den im Hammarstens Lehrbuch der physiol. Chem., 60. Aufl., S. 765 erwähnten lang ausgedehnten Ernährungsversuch von O. Neumann auf 12,8 %.

Indem ich damit meine Arbeiten über das Thema schließe, bin ich mir wohl bewußt, nichts Abschließendes erreicht zu haben, das war aber auch nicht zu erwarten. Wenn meine Versuche zu weiteren Arbeiten auf diesem sozialökonomisch so wichtigen Gebiete Anregung geben, ist ihr Zweck erreicht.

Bei der Ausführung der Untersuchungen haben mir Mittel aus der Gräfin-Bose-Stiftung zur Verfügung gestanden, für deren Gewährung ich mich dem Kuratorium der Stiftung zu lebhaftem Dank verpflichtet fühle.

Anhang. — Analytische Belege.

Fütterungsversuch 1 (Feuchtes Fleischalbuminat).

Erste Quantität des Albuminats.

N-Bestimmung.

a) 1,071 g erforderten 9,1 ccm $^n/_4$-Säure = 2,974 %
b) 0,943 g „ 8,0 „ „ = 2,969 %.

Zweite Quantität.

N-Bestimmung.

a) 1,0746 g erforderten 8,5 ccm $^n/_4$-Säure = 2,767 %
b) 0,932 g „ 7,4 „ „ = 2,779 %.

Erste Faeces = 63,5 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 0,8445 g erforderten 17,0 ccm $^n/_4$-Säure = 7,04 % N
b) 0,838 g „ 16,5 „ „ = 6,89 % N.

Zweite Faeces = 44,5 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 0,6005 g erforderten 14,2 ccm $^n/_4$-Säure = 3,516 % N
b) 0,7455 g „ 16,8 „ „ = 3,598 % N.

N-Bestimmung im Speck:

a) 10,0 g erforderten 33 ccm $^n/_4$-Säure = 0,234 % N
b) 10,0 g „ 32,8 „ „ = 0,252 % N.

Analyse des in Büchsen konservierten feuchten Fleischalbuminats. Büchse I.

1. Fettbestimmung. 3,228 g (mit Alkohol erhitzt, filtriert, auf dem Filter mit Äther gewaschen, dann Soxhlet usw., das Alkoholextrakt verdunstet und ausgeäthert) gaben 0,265 g Fett.

2. Trockenrückstand und Asche. 2,7854 g gaben 0,8414 g Trockenrückstand, wovon 0,8336 g organische Substanz, 0,0078 g Asche.

Büchse II.

1. Fettbestimmung. 3,871 g gaben 0,283 g Fett.

2. Trockenrückstand und Asche. — 2,711 g gaben 0,830 g Trockenrückstand und 0,092 g Asche.

Der organische Trockenrückstand minus Fett ist gleich Eiweiß zu setzen.

Fütterungsversuch 2.

Analyse des Fleischpräparates.

1. 1,6876 g gaben 1,5420 g Trockenrückstand, wovon 0,0433 g Asche (= 88,807 % organische Substanz und 2,57 % Asche).

2. N-Bestimmung.

a) 0,4609 g erforderten 20,5 ccm $^n/_5$-Säure = 12,454 % N
b) 0,4736 g „ 21,1 „ „ = 12,475 % N.

3. N-Bestimmung im Kot = 23,5 g trocken.

a) 0,7657 g erforderten 19,2 ccm $^n/_5$-Säure = 6,95 %
b) 0,880 g „ 22,5 „ „ = 7,159 %.

Fütterungsversuch 3 (Fleischalbuminat trocken).

Kot = 27,9 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 0,9416 g erforderten 22,1 ccm $^n/_5$-Säure = 6,27 %
b) 0,8032 g „ 18,0 „ „ = 6,57 %.

Fütterungsversuch 4 (Fleischalbuminat trocken).

Kot[1]) 73 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 0,7933 g erforderten 11,4 ccm $^n/_5$-Säure = 4,023 %
b) 0,7879 g „ 11,0 „ „ = 3,909 %.

Fütterungsversuch 5 (Blutkörperchenkoagulum, feucht).

1. Trockenrückstand 2,1214 g gaben 0,884 g Trockensubstanz.
2. Eisenbestimmung 0,884 Trockensubstanz gaben 0,0076 g $FePO_4$ = 0,311 % Fe.

3. N-Bestimmung:

a) 0,838 g erforderten 20,5 ccm $^n/_5$-Säure = 6,849 %
b) 0,807 g „ 19,8 „ „ = 6,869 %.

4. N-Bestimmung im Kot 41,5 g trocken.

a) 0,7154 g erforderten 16,5 ccm $^n/_5$-Säure = 6,458 %
b) 0,6144 g „ 14,5 „ „ = 6,608 %.

Fütterungsversuch 6 (Blutcoagulum, trocken).

1. N-Bestimmung im Coagulum.

a) 0,5299 g erforderten 23,0 ccm $^n/_4$-Säure = 15,10 %
b) 0,5820 g „ 25,4 „ „ = 15,26 %.

---

[1]) Sehr fett, schwer zu trocknen.

2. Kot 58 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 1,0108 g erforderten 23,7 ccm $^n/_4$-Säure = 7,966 %
b) 1,0381 g „ 26,0 „ „ = 8,766 %.

Die große Differenz erklärt sich durch die ungleiche Beimischung von Haaren.

Fütterungsversuch 7.

I. Analyse des Blutpräparates.

1. Wasser und Asche. 1,5708 g gaben 1,4770 g Trockenrückstand und 0,0124 g Asche 0,79 %; hieraus 0,0098 $FePO_4$.

2. Asche und Eisen. 3,7906 g gaben 0,0292 Asche = 0,77 %; hieraus 0,0222 $FePO_4$.

3. N nach Kjeldahl.

a) 0,3405 g erforderten 18,0 ccm $^n/_5$-Säure = 14,80 %
b) 0,3895 g „ 20,6 „ „ = 14,81 %.

4. N nach Dumas.

0,1760 g gaben 22,4 ccm N bei 15° und 765 mm B = 15,0 % N.

5. Lecithinbestimmung. 25 g mit Alkohol absolut extrahiert, verdampft, Rückstand mit Gemisch gleichen Volums Alkohol in Äther aufgenommen, verdunstet, mit Alkohol gelöst, die Lösung mit dem doppelten Volum Äther versetzt, filtriert usw. Erhalten 0,0182 $Mg_2P_2O_7$.

II. N-Bestimmung im Kot = 55 g trocken.

a) 0,7144 g erforderten 16,5 ccm $^n/_5$-Säure = 6,467 % N
b) 0,6562 g „ 15,4 „ „ = 6,571 % N

III. N-Bestimmung im Rindfleisch.

a) 1,4442 g erforderten 17,0 ccm $^n/_5$-Säure = 3,301 %
b) 1,4312 g „ 16,7 „ „ = 3,267 %.

Mittel 3,285 g, zu den Berechnungen auf 3,3 % abgerundet.

Fütterungsversuch 8.

I. Fleischbrühe.

100 g Fleisch mit 300 Wasser gekocht, filtriert, stets Vol. = 300. Die Hälfte erforderte 53 ccm $^n/_5$-Säure = 0,310 % N.

II. N in Faeces = 134 g trocken.

a) 0,5750 g erforderten 12,8 ccm $^n/_5$-Säure = 6,23 %
b) 0,8208 g „ 19,0 „ „ = 6,48 %.

III. Fett in Faeces.

3,533 g mit Salzsäure eingedampft, im Soxhlet mit Äther extrahiert, Auszug verdunstet, nochmals mit Äther extrahiert = 0,4362 g Rückstand, wovon 0,0096 g Asche, also 0,4266 g Fett. In 134 g Faeces 16,18 g Fett.

IV. Amylum im Kot nach L. v. Liebermann.

5,0394 g auf 500 ccm. 100 ccm lieferten 0,0548 Cu_2O.

Fütterungsversuch 9 (Blutcoagulum entfärbt, feucht).

1. Blutpräparat. Trockengehalt.

3,150 g gaben 1,080 g trocken = 34,29 %.

2. N in Faeces = 153 g.

a) 1,0694 g erforderten 14,5 ccm n/4-Säure = 4,746 %
b) 1,0376 g „ 14,4 „ „ = 4,821 %.

Fütterungsversuch 10 (Blutcoagulum entfärbt, trocken).

1. Blutpräparat. — H_2O und Asche.

0,8264 g gaben 0,8008 Trockenrückstand, worin 0,0076 g Asche = 0,949 % und 0,7932 g aschefreie Trockensubstanz = 95,98 %.

2. Blutpräparat. N-Bestimmung.

a) 0,3120 g erforderten 13,5 ccm n/4-Säure = 14.64 % N[1])
b) 0,2627 g gaben 34 ccm N bei 21° und 756 ccm B = 14,66 %.

3) Faeces = 155 g. N-Bestimmung.

a) 0,9996 g erforderten 30,45 ccm n/4-Säure = 10,66 % N
b) 0,1042 g „ 32,2 „ „ = 10,82 % N.

4. Fett im Kot.

3,6854 g, im Soxhlet extrahiert, gaben 0,194 g Fett = 5,264 %; im ganzen 8,153 g; mit Salzsäure behandelt und nochmals extrahiert: 0,0615 g = 1,67 % = 2,588 g. Im ganzen Fett und Fettsäuren aus Seifen 10,74 g.

---

[1]) Die den Berechnungen über Ausnutzung zugrunde gelegten Zahlen stimmen, wie hier bemerkt sein möge, nicht immer genau mit den aus den hier angegebenen Zahlen sich berechnenden Mittelzahlen überein. Der Grund liegt darin, daß diese Zahlen abgekürzt sind, bei den Berechnungen zur Bildung der Mittelzahlen auch die weiteren aus den Logarithmen sich ergebenden Dezimalen berücksichtigt sind.

5. Kohlehydrate in Faeces.

4,681 g nach Märker behandelt. Ausscheidung von Cu_2O unwägbar.

Fütterungsversuch 11 (Eiweißmehl aus Pferdebohnen).

Eiweißmehl I.

1. Wasser und Asche.

0,7464 g verloren bei 110° 0,6846 g = 11,32 % und hinterließen beim Glühen 0,0078 g Asche = 1,04 %.

2. N-Bestimmung.

a) 0,4886 g erforderten 17,7 ccm $^1/_4$-Säure = 12,73 % N
b) 0,6798 g „ 24,7 „ „ = 12,72 % N.

2. Eiweißmehl II. N-Bestimmung.

a) 0,3359 g erforderten 14,3 ccm $^n/_4$-Säure = 14,70 % N
b) 0,4069 g „ 17,3 „ „ = 14,88 % N.

3. Faeces I, 33,6 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 1,6708 g erforderten 19,8 ccm $^n/_4$-Säure = 4,15 % N
b) 1,3544 g „ 15,5 „ „ = 4,01 % N.

4. Faeces II. 145 g trocken. — N-Bestimmung.

a) 1,2618 g erforderten 18,0 ccm $^n/_4$-Säure = 4,99 %
b) 1,0328 g „ 14,6 „ „ = 4,95 %.

Fütterungsversuch 12.

Analyse des Aleuronats.

1. H_2O-Bestimmung.

a) 1,3551 g verloren bei 110° 0,0774 = 5,71 % H_2O
b) 1,4535 g „ „ 110° 0,0868 = 5,97 % H_2O.

2. Aschebestimmung.

a) 1,3551 g gaben 0,0145 g Asche = 1,07 %
b) 1,4535 g „ 0,0152 g „ = 1,07 %.

3. N-Bestimmung ist diesmal in der wasserfreien Substanz nach Dumas bestimmt.

a) 0,2933 g gaben 35,2 ccm N bei 16° und 750 mm B = 13,80 %
b) 0,2715 g „ 33,0 „ „ „ 18° „ 742 „ B = 13,70 %.

Diese Zahlen sind zugrunde gelegt. Aus dem Mittelwert $= 13,75\,^0/_0$ berechnet sich der N-Gehalt der lufttrockenen Substanz zu $12,95\,^0/_0$.

Die auch ausgeführten Kjedahlbestimmungen ergaben etwas niedrigere Werte.

a) 0,3060 g erforderten 14,7 ccm $^n/_5$-Säure $= 13,45\,^0/_0$ N

b) 0,3000 g „ 14,5 „ „ $= 13,53\,^0/_0$ N.

4. Fettbestimmung. 2,964 g mit einem Gemisch von 20 ccm Salzsäure von 1,124 D und 80 ccm Wasser zum Sieden erhitzt und 1 Stunde unter zeitweiligem Ersatz des Verdunsteten durch heißes Wasser im Sieden erhalten, nach dem Erkalten die Mischung mit Äther ausgeschüttelt. Erhalten 0,0316 g Fett. Die Mischung dann filtriert, das Filtrat ist ganz klar und fettfrei. Der Rückstand ausgewaschen, heiß mit Alkohol absolut extrahiert (im Kolben) filtriert; Alkoholauszug verdunstet, mit Äther aufgenommen. Erhalten 0,0115 g. Endlich der auf dem Filter gebliebene Rückstand und das vom Äther nicht Gelöste des Alkoholauszuges in einer Schale in schwacher Natronlauge gelöst, mit Salzsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt. Erhalten 0,0075 g Fett, also im ganzen 0,0551 g $= 1,86\,^0/_0$. — Das Filtrat sollte zu einer Zuckerbestimmung resp. Amylumbestimmung dienen, ging jedoch verloren.

5. Amylumbestimmung. 3,0014 g mit einem Gemisch von 195 ccm Wasser und 5 ccm Salzsäure 1,124 D $^1/_2$ Stunde gekocht, heiß filtriert, nachgewaschen. Das beim Abkühlen trüb werdende Filtrat mit NaOH schwach alkalisiert (dabei bleibt es bis auf eine leichte Opalescenz klar), dann mit Essigsäure angesäuert, vom ausgeschiedenen Eiweiß abfiltriert, nachgewaschen und bis auf 100 ccm eingedampft. 20 ccm gaben 0,1016 Cu_2O. Hieraus berechnet sich (Zucker $\times$ 0,9) $7,68\,^0/_0$ Amylum. Der Sicherheit wegen wurde weiter mit Salzsäure erhitzt. Zu 60 ccm des Filtrates wurden 6 ccm Salzsäure $= 1,124$ D hinzugefügt, volle 3 Stunden im lebhaft siedenden Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten wieder das Volumen von 60 ccm hergestellt. 20 ccm gaben 0,1204 Cu_2O. Hieraus berechnet sich Amylum $9,10\,^0/_0$. Die Verzuckerung war also bei der ersten Erhitzung mit der stark verdünnten Salzsäure nicht vollständig gewesen. Das Verfahren erscheint einer allgemeinen Anwendung fähig.

6. Rohfaserbestimmung. Der bei der Amylumbestimmung durch die wässerige Salzsäure nicht gelöste Rückstand vom Filter gespritzt, so viel Wasser hinzugesetzt, daß das Volumen ca. 200 ccm beträgt, 2,5 g Ätzkali hinzugesetzt (5,4 % ige Kalilauge), in der Schale gekocht, ausgewaschen, mit Alkohol und Äther gewaschen, gewogen. Erhalten 0,0122 g, davon Asche 0,0024 g, also organischer Rückstand 0,0098 g = 0,327 %.

Analyse des Kotes (trocken) = 70 g.

1. N-Bestimmung.

a) 0,8122 g erforderten 18,0 ccm $^1/_5$-Säure = 6,20 % N
b) 0,7491 g „ 16,0 „ „ = 5,98 % N.

2. Fettbestimmung. 2,9874 g ebenso bearbeitet, wie das Aleuronat. Erhalten 0,9135 + 0,015 + 0,0075 = 0,9315 g = 30,93 %.

3. Amylum. Die bei der Bestimmung des Fettes gebliebene wässerige salzsaure Lösung wurde gekocht, dann auf Glucose untersucht; das Resultat war negativ, Amylum also nicht nachweisbar.

Fütterungsversuch 13 (Pferdebohnenmehl).

1. N im Pferdebohnenmehl.

a) 0,5870 g erforderten 9,0 ccm $^1/_5$-Säure = 4,29 % N
b) 0,564 g „ 8,9 „ „ = 4,42 % N.

2. N in Faeces.

a) 0,8274 g erforderten 11,0 ccm $^1/_5$-Säure = 3,72 % N
b(0,9542 g „ 12,5 „ „ = 3,70 % N.

Die Stickstoffverteilung in der Kuh-, Büffel-, Ziegen-, Frauen- und Eselsmilch bei Säure- und Labfällung.

Von

Willi Friedheim.

(Aus der akademischen Klinik für Kinderheilkunde in Düsseldorf.)

[Eingegangen am 19. Februar 1909.]

Mit 1 Tafel.

Schon seit den klassischen Untersuchungen Hammarstens ist es hinlänglich bekannt, daß wir es bei der Fällung der Milch mit Säure und mit Lab mit zwei verschiedenen Prozessen zu tun haben. Der eine der grundlegenden Unterschiede besteht darin, daß das Produkt der Labfällung, das Paracasein, im Gegensatz zu dem der Säurefällung, dem Casein, einen starken Gehalt an Kalk aufzuweisen hat. Diese Tatsache ist längst in den Besitzstand der Biochemie übergegangen.

Weniger bekannt ist es, daß sich bei der Labgerinnung der Kuhmilch ein weiterer Vorgang am Caseinmolekül abspielt, welcher ebenfalls durch Hammarsten aufgedeckt worden ist. Es wird nämlich ein löslicher Bestandteil, das sog. Molkeneiweiß, abgespalten, welches in die Molke übergeht. Der Vorgang findet seinen einfachsten Ausdruck darin, daß die Molke nach Labgerinnung einen höheren Stickstoffgehalt aufzuweisen hat, als nach der Einwirkung von Säure. Die Frage ist in der jüngsten Zeit Gegenstand mehrfacher Bearbeitung gewesen. Man beschäftigte sich teils damit, festzustellen, wie groß die Menge des Spaltproduktes sei, teils aber auch mit Theorie und Wesen des Prozesses und schließlich auch damit, was für ein Körper es wohl sein möge, welcher in die Labmolke übergeht.

Als wir daran gingen, uns mit dem Problem[1]) näher zu befassen, leiteten uns Gesichtspunkte der letzteren Art nicht, sondern wir waren in erster Reihe bestrebt, die Verteilung der gelösten und der ungelösten stickstoffhaltigen Körper bei Säure- und bei Labfällung zu studieren, indem wir von verdauungsphysiologischen Gesichtspunkten unseren Ausgang nahmen.

Für uns handelte es sich zunächst darum, nicht so sehr den Vorgang bei der Kuhmilch oder ihrem Casein aufs neue zu analysieren, als vielmehr nachzusehen, ob andere Milcharten, welche auch für den Genuß beim Menschen und insbesondere beim Säugling in Frage kommen, ein analoges Verhalten aufzuweisen haben.

Von besonderem Interesse war uns natürlich neben der Kuh- die Frauenmilch, weil uns auch darum zu tun war, eventuell einen Einblick in die Differenzen der natürlichen und der künstlichen Säuglingsernährung zu tun. Daher haben wir auch, um uns ein eigenes Urteil bilden zu können, noch mehrere Analysen von Kuhmich vorgenommen. Andere Milcharten haben wir berücksichtigt, weil sie gerade zur Verfügung standen, und weil uns auch daran gelegen war, nachzusehen, ob die bei der Kuhmilch bereits festgestellten Unterschiede zwischen Säure- und Labgerinnung bei allen Milcharten immer wiederkehren.

Wir haben, da es uns ja vor allen Dingen darauf ankam, die natürlichen Verhältnisse so getreu wie denkbar nachzuahmen, ausschließlich mit frischer Milch und nicht etwa mit Caseinlösungen gearbeitet und uns ganz einfach die Frage gestellt, wie verhält sich bei Säure- und bei Labfällung das Verhältnis der stickstoffhaltigen Körper in der Molke zu dem der Fällung. Wir pflichten zwar Fuld vollkommen bei, wenn er das Problem der Molkenalbumose an reinstem Casein besser lösen zu können glaubt wie bei der natürlichen Milchgerinnung mit ihrer „unübersehbaren Komplikation", aber uns kam es, wie schon gesagt, bei unserer Fragestellung zunächst auf die Theorie des Problems nicht an. Demgemäß haben wir unsere Versuchsanordnungen stets so gestaltet, daß wir von einer bestimmten Milchprobe den Gesamtstickstoff bestimmt haben,

[1]) Die Untersuchungen wurden auf Veranlassung und unter Leitung von Dr. Engel in Düsseldorf ausgeführt.

dann den Stickstoff in dem Filtrat nach der Säure- und nach der Labfällung. Die drei so gewonnenen Zahlen geben uns vollständig ausreichenden Aufschluß über die Verteilung der gelösten und der ungelösten stickstoffhaltigen Körper.

Methodische Schwierigkeiten waren nur insoweit zu überwinden, als die Fällungsbedingungen für einige Milcharten nicht oder nur unvollständig bekannt waren, so daß erst die entsprechenden Verfahren ausgearbeitet werden mußten.

Die größten Schwierigkeiten dabei haben uns die sog. Albuminmilchen gemacht, die Frauen- und die Eselsmilch, während die anderen Milcharten, die caseinreichen, sich leicht behandeln ließen. Wir schicken daher, um uns nachher bei der Besprechung der Resultate kürzer und übersichtlicher ausdrücken zu können, zunächst die Beschreibung der Methoden voran, deren wir uns bedienten.

Säurefällung.

Die Säurefällung der Milch läßt sich für alle untersuchten Arten gemeinsam besprechen. Es hat sich nämlich im Laufe der Untersuchungen herausgestellt, daß sich im Prinzip alle Milcharten der Säurewirkung gegenüber gleich verhalten, daß sie sich alle durch Ansäuerung allein fällen lassen. Auch die Frauenmilch und die Eselsmilch, von denen man früher glaubte, daß sie eine Ausnahmestellung einnähmen, lassen sich ausgezeichnet durch Säure zur Gerinnung bringen, wenn man nur die richtigen Mengen anwendet. Allerdings erfolgt bei den letzteren beiden Milchsorten und besonders bei der menschlichen Milch die Fällung nicht so leicht wie sonst, doch immerhin gut genug, um auf ganz einfache und kurze Weise das Casein von einer klaren Molke abtrennen zu können.

Zwei Tatsachen müssen vor allen Dingen berücksichtigt werden, wenn man verschiedene Milcharten durch Säure fällen will, nämlich die Art der Säure und die Menge, welche man verwendet. Die letztere wiederum ist von der Art der Milch und der Stärke der Säure abhängig.

Starke und schwache Säuren.

Allen Milcharten ist gemeinsam, daß sie sich den starken und schwachen Säuren gegenüber verschieden verhalten. Als

Vertreter der ersteren haben wir vor allen Dingen Salz-, Schwefel-, Milch- und Oxalsäure geprüft, bei den letzteren uns aber wesentlich auf die Essigsäure beschränkt, welche sich als außerordentlich geeignet für unsere Zwecke bald erwiesen hat.

Will man die Wirkungsweise einer Säure auf Milch prüfen, so geht man zweckmäßig so vor, daß man in einer Reihe von Reagensgläsern (s. Tafel I) steigende Mengen Säuren einfüllt, sie auf gleiches Volumen mit destilliertem Wasser bringt und dann überall dieselben Mengen der zu prüfenden Milch zusetzt. Man schüttelt dann die Röhrchen gut durch und überläßt sie entweder bei Zimmertemperatur sich selbst, oder aber auch, wenn es sich als zweckmäßig erweist, wenigstens im Anfang bei einer Temperatur von 40° im Wärmeschrank. Wir haben alle unsere Untersuchungen so angestellt, daß wir von 1 ccm Milch ausgingen und daß wir, um gut vergleichbare Säurewerte zu erhalten, immer $^{n}/_{10}$-Lösungen verwendeten. Außerdem hat es sich, wie ja schon ältere Erfahrungen lehren, als zweckmäßig erwiesen, die Milch zu verdünnen, und zwar haben wir uns einer vier- oder fünffachen Verdünnung stets bedient, je nachdem sich die eine oder andere als geeignet herausstellte. Praktisch gingen wir dabei so vor, daß wir entweder die Milch entsprechend verdünnten und dann die Säure zufügten, oder erst die Säure auf ein Volumen von 3 bzw. 4 ccm brachten und dann überall 1 ccm Milch hinzufügten. Je nach der Milchart, um die es sich handelt, tritt dann in der Kälte oder in der Wärme schneller oder langsamer eine mehr oder minder grobflockige Gerinnung ein. Die Flocken senken sich nach einiger Zeit zu Boden, — bzw. steigen bei der Frauenmilch in die Höhe) und man kann schnell beurteilen, in welchem Röhrchen ein *trübes* oder *klares* Plasma[1]) zurückbleibt. Die endgültige Ablesung des Endresultates haben wir stets nach 24 Stunden vorgenommen, dessenungeachtet, daß das Ergebnis in den meisten Fällen schon früher klar ersichtlich war.

Geht man nun in der geschilderten Weise vor, so sieht man, daß bei der Verwendung starker und schwacher Säuren sich ganz einheitlich bei allen Milcharten das folgende herausstellt: Die starken Säuren rufen nur in einem oder in wenigen Gläschen, also nur bei einer eng begrenzten

---

[1]) In den Tabellen: 1 Strich = Fällung, 5 Striche = vollständige Fällung.

Acidität, eine vollständige Ausfällung hervor, während in den vorangehenden oder nachfolgenden gar keine oder eine unvollständige Ausflockung auftritt. Bei der Essigsäure ist es jedoch ganz anders. Auch hier tritt zwar erst Gerinnung von einer gewissen Acidität an ein, aber dann bleibt sie vollständig gleichmäßig in der großen Zahl nachfolgender Proben, selbst bis über das doppelte derjenigen Acidität hinaus, welche für die Einleitung des Prozesses nötig waren. Im allgemeinen bedurfte man auch zur Fällung mit Essigsäure bedeutend höherer Werte, als zu der mit den vorerwähnten starken Säuren. Das von B. Bienenfeld festgestellte Verhalten der Frauenmilch gegenüber der Milchsäure stellt also nur einen besonderen Fall dar, der sich in das allgemeine Gesetz einpaßt.

Tabelle I.

Fällung von 1 ccm fünffach verdünnter Kuhmilch durch starke Säuren.

<table>
<tr><th>n/10-Säure</th><th>Oxalsäure</th><th>Milchsäure</th><th>Salzsäure</th><th>Schwefelsäure</th></tr>
<tr><td>0,0</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,1</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,2</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,3</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,4</td><td>—</td><td>| | | | |</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,5</td><td>|</td><td>| | | | |</td><td>| |</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,6</td><td>| | | | |</td><td>| | | | |</td><td>| | | | |</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,7</td><td>| | | | |</td><td>| | | | |</td><td>| | | |</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,8</td><td>| | | | |</td><td>| | |</td><td>| |</td><td>| | | |</td></tr>
<tr><td>0,9</td><td>| |</td><td>| |</td><td>|</td><td>| | |</td></tr>
<tr><td>1,0</td><td>|</td><td>| |</td><td>|</td><td>| |</td></tr>
</table>

Caseinmilchen. Die von uns untersuchten Caseinmilchen, Kuh-, Ziegen- und Büffelmilch, waren insgesamt dadurch ausgezeichnet, daß hier die Gerinnung sehr prompt, schnell und grobflockig erfolgte, und zwar schon ohne weitere Manipulationen bei Zimmertemperatur. Unmittelbar nachdem die

Milch zugesetzt war, traten die Caseingerinnsel auf. Die leichte Fällbarkeit fand einen weiteren Ausdruck darin, daß bei der Verwendung starker Säuren und wenn man im Rahmen der oben geschilderten Versuchsanordnung von Röhrchen zu Röhrchen die Acidität um je 0,1 $^{n}/_{10}$-Säure steigerte, nicht nur eine einzige Eprouvette vollständige Gerinnung, d. h. also eine wasserklare Molke zeigte, sondern zwei oder drei, manchmal auch vier. Hiermit stand es auch im Einklange, daß unvollständige Gerinnung in einer großen Zahl von Proben besonders nach dem Säureoptimum vorhanden war und daß sie nur selten ganz fehlte. Als Beispiel führen wir die Gerinnung von Kuhmilch durch Oxal-, Schwefel-, Milch- und Salzsäure an in Reihen, wo sich die Acidität von 0,0 bis 1,1 $^{n}/_{10}$-Säure steigert (Tab. I). Man sieht hier recht deutlich, daß das Optimum der Acidität etwa bei 0,3 bis 0,7 liegt. Innerhalb dieses Bereichs steht über dem Caseingerinnsel ein *wasserklares Plasma*, während vor- und nachher ab- bzw. zunehmende Trübung deutlich sichtbar ist. In der Tabelle I ist wie in allen anderen auf die Gerinnung bezüglichen die Helligkeit des Plasmas, welche man nach 24 Stunden abliest, durch die Anzahl der senkrechten Striche bezeichnet (5 | = wasserklar). Man ersieht so, daß das Charakteristische an dieser Tabelle ist, daß die Wirkung nach einem Optimum zu schnell anschwillt und dann auf der anderen Seite langsam wieder abnimmt. Derartige Befunde erhält man immer, wenn man mit starken Säuren arbeitet.

Bei der Verwendung von Essigsäure ist es im Gegensatz dazu so, daß von einem gewissen Grade eine völlige Gerinnung eintritt und dann in den nächstfolgenden Röhrchen für steigende Aciditätsgrade zunächst gleichmäßig bleibt (s. Tabelle II).

Man erhält also für jede Milchart bei den starken Säuren ein Optimum der Wirkung, bei der Essigsäure eine Zahl, welche den minimalen Aciditätsgrad angibt, welchen man nehmen muß, um Wirkungen zu erzielen. In der folgenden Tabelle III sind die bezüglichen Zahlen für die drei Caseinmilchen zusammengestellt. Sie differieren nicht sehr erheblich voneinander, sind aber auch keineswegs gleich.

Will man die so gewonnenen Resultate für die Praxis der Caseinausfällung benutzen, so wird man zunächst zweckmäßig von der Verwendung starker Säuren absehen, weil man

hier zu genau auf die Dosierung achten müßte und lieber mit Essigsäure arbeiten, bei der man es nicht allzu genau zu nehmen braucht, wenn man nur über die mindest benötigten Mengen hinausgeht.

Tabelle II (s. a. Taf. I, Fig. 1).
Fällung von 1 cm³ fünffach verdünnter Kuhmilch durch Salz- und Essigsäure.

$^{n}/_{10}$-Säure	Salzsäure	Essigsäure
0,0	—	—
0,1	—	—
0,2	—	—
0,3	—	—
0,4	—	—
0,5	I I	—
0,6	I I I I I	I I I I I
0,7	I I I I	I I I I I
0,8	I I	I I I I I
0,9	I	I I I I I
1,0	I	I I I I I
1,1	I	I I I I I

Man verfährt daher am besten bei der Verarbeitung von Kuh-, Büffel- und Ziegenmilch so, daß man die Milch, welche man fällen will, in ein viermal so großes Flüssigkeitsquantum einträgt, welches man mit Essigsäure auf eine Acidität von mindestens 70 bzw. 120 $^{n}/_{10}$-Essigsäure pro 100 ccm unverdünnte Milch gebracht hat. Man läßt sie dann einige Stunden kühl stehen und filtriert sofort mühelos eine klare Molke ab.

Tabelle III.
Aciditätswerte in cm³ $^{n}/_{10}$-Säure für die Caseinfällung von 100 cm³ Kuh-, Büffel- und Ziegenmilch (Salz- und Essigsäure).

	Kuhmilch	Büffelmilch	Ziegenmilch	
Salzsäure	50—70	70—90	40—70	—
Essigsäure	60—80	100—120	60—80	Minimalwerte

Albuminmilchen. Die von uns verwendeten Albuminmilchen von der Frau und vom Esel sind so leicht nicht gerinnbar wie die Caseinmilchen, sie fallen vor allen Dingen nicht in so groben Flocken wie jene aus. Im Prinzip ist aber ein Unterschied im Verhalten den Säuren gegenüber nicht vorhanden. Am allerschwierigsten verhält sich die Frauenmilch, wo die entsprechenden Verhältnisse bereits eingehend von Engel geschildert worden sind. Ursprünglich war von Bianca Bienenfeld die Entdeckung gemacht worden, daß sich die Frauenmilch durch Milchsäure fällen läßt, wenn man nur die richtigen Mengen anwendet, welche sie zu 25 bis 30 ccm $^{n}/_{10}$-Säure auf 100 ccm unverdünnte Milch feststellte. Engel hat dann nachgewiesen, daß ein ganz ähnliches Aciditätsoptimum für alle starken Säuren gilt. Im Gegensatz zu den vorhin geschilderten Caseinmilchen ist aber die Frauenmilch dadurch ausgezeichnet, daß das Optimum der Säuerung viel enger begrenzt ist: Bei der von ihm ebenso wie in den vorhin geschilderten Versuchen gewählten Anordnung genügt in der Reihe schon eine Differenz von 0,1 Säure auf 1 ccm Milch, um neben der optimalen Fällung einen totalen Mißerfolg zu erzielen. Ja, wenn Engel mit noch größerer Verdünnung der Säure arbeitete, konnte er finden, daß selbst ein Unterschied von 0,2 ccm $^{n}/_{50}$-Säure den gleichen Effekt hervorbringt. Auf der andern Seite bietet *Essigsäure* auch bei der Frauenmilch wiederum einen *weiten Spielraum* bei ihrer Benutzung. Sie muß in weit größeren Mengen angewendet werden, bringt aber, wenn man erst einmal die Wirkungsgrenze erreicht hat, auch noch bei bedeutenden Steigerungen gleich gute Effekte hervor. Ganz ähnlich verhält sich nun auch die Eselsmilch, wenn sie auch nicht so heikel ist, wie die Frauenmilch. Bei der Verwendung von starken Säuren und bei der Steigerung um 0,1 Säure erhält man doch in der Regel wenigstens in 2 Röhrchen eine komplette Fällung und ein wasserklares Plasma. Die Essigsäure wirkt bei der Eselsmilch ebenso wie bei allen anderen Milcharten, d. h. also, auch starke Überschreitung der geringsten notwendigen Mengen bewirkt noch ebenso gute Fällung wie am Anfang. Bemerkenswert jedoch ist, daß die absoluten Säuremengen, welche man zur Fällung der Eselsmilch braucht, bei weitem höher sind als bei der Frauenmilch und

fast genau das Doppelte betragen. Fällt z. B. die Frauenmilch bei einer Ansäuerung von 25 bis 30 ccm Salzsäure auf 100 Milch, so muß man für die Eselsmilch 50 bis 60 ccm nehmen.

Ebenso ist es auch mit der Essigsäure. Hier beträgt der entsprechende Anfangswert für die Frauenmilch 60 bis 80 ccm, während er bei der Eselsmilch 150 bis 180 beträgt. Eine obere Grenze der Acidität wird, wie Tabelle IV zeigt, etwa bei 240 erreicht.

Tabelle IV (s. a. Taf. I, Fig. 2).

Fällung von 1 ccm fünffach verdünnter Eselsmilch durch Salz- und Essigsäure.

<table>
<tr><th>n/10-Säure ccm</th><th>Salzsäure</th><th>n/10-Säure ccm</th><th>Essigsäure</th></tr>
<tr><td>0,0</td><td>—</td><td>0,0</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,1</td><td>—</td><td>0,3</td><td>—</td></tr>
<tr><td>0,2</td><td>—</td><td>0,6</td><td>|</td></tr>
<tr><td>0,3</td><td>—</td><td>0,9</td><td>| |</td></tr>
<tr><td>0,4</td><td>|</td><td>1,2</td><td>| | |</td></tr>
<tr><td>0,5</td><td>| | | | |</td><td>1,5</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,6</td><td>| | | | |</td><td>1,8</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,7</td><td>| |</td><td>2,1</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,8</td><td>—</td><td>2,4</td><td>| | | | |</td></tr>
<tr><td>0,9</td><td>—</td><td>2,7</td><td>| | |</td></tr>
<tr><td>1,0</td><td>—</td><td>3,0</td><td>| |</td></tr>
<tr><td>1,1</td><td>—</td><td>3,3</td><td>| |</td></tr>
</table>

Die leichtere Gerinnbarkeit der Eselsmilch dokumentiert sich darin, daß sich der Prozeß hier schon bei Zimmertemperatur vollzieht, während man gute Erfolge bei der Frauenmilch nur dann hat, wenn man sie auf 40° anwärmt. Außerdem sind die Flocken bei der ersteren in der Regel größer wie bei der letzteren. Da die Flockengröße für die Filtrierbarkeit von ausschlaggebender Bedeutung ist, hat es sich, wie schon früher von Engel mitgeteilt, für die Frauenmilch als zweckmäßig erwiesen, einen kleinen Kunstgriff anzuwenden, welcher darin besteht, daß die zur Fällung angesetzte Milch einige Stunden

tief abgekühlt wird auf 3 bis 4° und dann erst in die Wärme versetzt wird. Diese Manipulation braucht man mit der Eselsmilch nicht vorzunehmen, kann sie jedoch auch hier mit Erfolg anwenden. Hinzugefügt sei noch, daß die zweckmäßigste Verdünnung für die Frauenmilch die *fünffache* und für die Eselsmilch die *vierfache* ist.

Die praktische Ausführung der Frauen- bzw. Eselsmilchausfällung wird daher so vorgenommen, daß man die fünf- bzw. vierfache Verdünnung auf eine Acidität von 60 bis 80 bzw. 150 bis 200 Essigsäure bringt, die Kolben eine Zeitlang im Eisschrank stehen läßt und sie dann in ein Wasserbad von 40° bringt. Das Casein fällt dann grobflockig aus und kann leicht abfiltriert werden.

Wir machen noch besonders darauf aufmerksam, daß die Aciditätswerte, welche man für die Frauenmilch bzw. Eselsmilch nötig hat, sehr viel höher sind als für die Kuhmilch, und daß hierin der Grund liegt, weswegen frühere Forscher in der Regel keinen Erfolg hatten, wenn sie versuchten, eine einfache Säurefällung in diesen Milcharten hervorzurufen. Sie gingen immer von den bei der Kuhmilch gemachten Erfahrungen aus, und da sie nicht in Reihenversuchen den nötigen Säuregrad ermittelten, so nahmen sie durchgehend zu wenig, so daß ein Erfolg nicht eintreten konnte. Uns selbst passierte noch das gleiche Mißgeschick, als wir, von den Erfahrungen der Frauenmilch ausgehend, Eselsmilch durch Säure zur Gerinnung bringen wollten.

Wir verwendeten zunächst die gleiche Menge wie bei der Frauenmilch, aber es trat keine Spur einer Wirkung auf. Wir ermittelten dann in einem Reihenversuch die nötige, freilich überraschend große Acidität und hatten, als wir sie dann verwendeten, keinen einzigen Mißerfolg mehr zu verzeichnen. Wir gehen nunmehr, nachdem wir erkannt haben, daß sich alle Milcharten durch Säure und durch Essigsäure vor allem fällen lassen, immer so vor, daß wir bei der Benutzung einer neuen Milchart erst einen entsprechenden Vorversuch anstellen, um den für die Fällung erforderlichen Aciditätsgrad zu ermitteln. Es wird sich empfehlen, wenn man mit andern Milchsorten arbeitet, wie wir sie benutzt haben, immer wieder in der gleichen Weise zu ver-

fahren. Man kann sich so unter allen Umständen kompliziertere Methoen für die Fällung, wie sie sonst wohl angewendet wurden, ersparen.

Labfällung.

Bei der Labfällung ergeben sich für die *Caseinmilchen* keinerlei methodische Schwierigkeiten. Hier genügt es, zur völlig unveränderten Milch eine geringe Menge einer käuflichen Lablösung oder eines Labpulvers hinzuzufügen, um binnen kurzer Zeit eine völlige Erstarrung der Milch herbeizuführen. Läßt man dann die Milch noch einige Stunden an einem kühlen Orte stehen, so setzt sich der Käsekuchen gut ab, und man kann dann die Molke mit Leichtigkeit abfiltrieren. Wir haben darauf verzichtet, im Gegensatz zu anderen Autoren (Rotondi) auch noch Säure hinzuzufügen, wiewohl wir uns bewußt sind, daß auf diese Weise a priori ein völlig präziser Vergleich der Säurefällung und der Labfällung nicht möglich ist. Da wir uns aber immer von dem Gesichtspunkte leiten ließen, möglichst natürliche Verhältnisse zu schaffen, so haben wir auch bei denjenigen Milcharten, welche sich ohne Zuhilfenahme von Säure zur fermentativen Gerinnung bringen lassen, tatsächlich keine verwendet.

Die Molke, welche man auf diese Weise erhalten konnte, war, nachdem sie ein oder mehrere Male durch ein Filter gelaufen war, von bernsteingelber oder hellbräunlicher Färbung und war auch dann noch leicht opalescent, wenn man sie durch gehärtete, außerordentlich dichte Filter hatte passieren lassen. Diese Opalescenz wurde durch morphotische Bestandteile nicht hervorgerufen, wie sich leicht dadurch erweisen ließ, daß selbst ein halbstundenlanges Behandeln in einer Zentrifuge mit 3000 Umdrehungen in der Minute nicht imstande war, irgendwelche Schichtung hervorzurufen. Nur bei einer Ziegenmolke (s. S. 148) war die Trübung stärker als gewöhnlich und beim Zentrifugieren sammelte sich an der Oberfläche eine dünne weißliche Schicht an; es wurde dann die darunter befindliche Flüssigkeit für die Analyse verwertet.

Bei der Bearbeitung der *Albuminmilchen* mußte anders vorgegangen werden. Hier erzeugt eine neutrale oder schwachsaure Lablösung weder in der Kälte noch in der Wärme einen

sichtbaren Niederschlag. Andererseits ist von Kreidl und Neumann und von Engel darauf hingewiesen worden, daß frische Frauenmilch wohl labfähig ist, wenn man nur ihre Acidität erhöht, und Fuld und Wohlgemut haben ebenfalls die fermentative Beeinflußbarkeit solcher Frauenmilch erwiesen, welche vorher mehrere Tage eingefroren gehalten worden war. Fernerhin haben Kreidl und Neumann nachgewiesen, daß auch neutrale Lablösung auf frische Frauenmilch insofern einen Einfluß ausübt, als sie ihre Caseinteilchen im Ultramikroskop sichtbar macht. Mit Rücksicht auf den letzteren Befund besonders gingen wir daher so vor, daß wir die zu untersuchende Milch zunächst mit einer Lablösung versetzten und in der Kälte stehen ließen, und zwar 3 bis 24 Stunden. In der Kälte ließen wir die Milch deswegen stehen, weil ja schon nach den Feststellungen von Hamarsten bekannt ist, daß die eigentliche Labwirkung, d. h. die Umwandlung des Caseins, sich in der Kälte vollzieht und daß nur die Ausfällung in der Wärme besser erfolgt. Wir hatten durch die Kältewirkung aber gleichzeitig den Vorteil, daß nachher die Ausflockung gröber wurde, was wiederum die Filtration erleichterte (s. auch S. 140).

Wir mußten weiter noch dafür Sorge tragen, daß die für die Bildung des Paracaseins nötige Menge von Kalk vorhanden war, welche für den Reagensglasversuch wenigstens durch den natürlichen Gehalt der Frauenmilch nicht gedeckt ist. Zu diesem Zweck fügten wir der Milch gleich noch etwa das gleiche Volumen am gewöhnlichen Leitungswasser hinzu, welches in Düsseldorf einen relativ hohen Kalkgehalt hat. Hat dann die Mischung einige Stunden oder einen Tag im Kühlraum gestanden, so wurde ebensoviel Essigsäure oder Salzsäure hinzugefügt, wie zur Ausfällung des Caseins durch Säurewirkung allein nötig gewesen wäre. Ferner wurde so viel Wasser zugegeben, daß die Verdünnung genau fünffach war, und nun wurde das Ganze in ein Wasserbad von 40° übertragen. Alsdann trat baldige Gerinnung und zwar schneller wie bei Säurewirkung allein auf und es konnte mühelos ein klares, wasserhelles Filtrat gewonnen werden.

Die praktische Ausführung bei der Herstellung der Labmolke gestaltet sich daher meistens so, daß 40 ccm Frauen- bzw. Eselsmilch in einen Meßkolben von 200 ccm gebracht

wurden. Hierzu kamen 2 ccm einer Lablösung mit einem Stickstoffgehalt von 0,2%. Dann wurden etwa 50 ccm Leitungswasser zugefügt und das Ganze in einen Kühlraum von 3 bis 4° über 0° gebracht. Nach 3 bzw. 24 Stunden wurden dann 30 bzw. 80 ccm $^{n}/_{10}$-Essigsäure hinzugegeben und mit Leitungswasser bis zur Marke aufgefüllt. Nun erfolgte im Wasserbad die Ausfällung, die in etwa 10 Minuten beendet war, und es konnte filtriert werden, wobei wir uns eines gewöhnlichen Faltenfilters bedienten.

Zweimal haben wir bei Eselsmilch die Labwirkung bei 36° sich vollziehen lassen, und zwar nur für 15 Minuten. Hierauf wird bei der Besprechung der Ergebnisse noch näher eingegangen werden.

Verarbeitung des Materials.

Die Stickstoffbestimmung wurde immer nach der Methode von Kjeldahl vorgenommen, und zwar wurden ausnahmslos doppelte Bestimmungen gemacht und in die Tabelle der Durchschnitt aus zwei gut übereinstimmenden Resultaten aufgenommen. Die Milch wurde so verarbeitet, daß je 5 ccm zu einer Verbrennung benutzt wurden. Von den Säuremolken wurden entsprechend der hier geübten Verdünnung mehr genommen und zwar in der Regel 50 ccm, die dann erst im Verbrennungskolben langsam eingedampft wurden, nachdem die Schwefelsäure schon zugesetzt war. Es wurde nun immer, nachdem der Gesamt-N, der N der Säuremolke und der Labmolke ermittelt war, berechnet, wieviel er in Prozenten des Gesamt-N ausmacht, wie groß die Differenz zwischen dem N-Gehalt der Säuremolke und der Labmolke ist und wieviel Prozent wiederum diese Differenz vom Gesamtstickstoff beträgt. Ferner wurde noch das Verhältnis des N-Gehaltes der Labmolke zur Säuremolke bestimmt, um zu sehen, ob etwa hier bestimmte Beziehungen sich ergeben.

Ergebnisse.

Zunächst sei vorweggenommen, daß sich bei allen untersuchten Milcharten insofern einheitliche Resultate herausgestellt haben, als man immer in der Labmolke einen *höheren Stickstoffgehalt* fand wie in der Säuremolke. Die Einzel-

heiten werden bei der Besprechung der verschiedenen Milcharten angeführt werden. Hier sei noch zunächst bemerkt, daß sich prinzipielle Verschiedenheiten nicht ergeben haben zwischen den Albumin- und den Caseinmilchen, was nämlich die Größe der Differenz im Stickstoffgehalt der Säuremolke und der Labmolke anbelangt, wenn man sie auf den Gesamt-N berechnet.

Die Durchschnittszahlen für die verschiedenen Milcharten zeigen, daß die Differenz zwischen Säure- und Labmolke bei der Frauenmilch etwas größer ist, wie bei der Kuh- und Ziegenmilch und etwa doppelt so groß wie bei der Eselsmilch. Den Vergleich mit der Büffelsmilch möchten wir nicht anstellen, weil hier nur ein einziges mal Gelegenheit zur Untersuchung vorhanden war, und es daher nicht feststeht, ob sich nicht bei einer größeren Zahl von Untersuchungen andere Werte ergeben würden wie die geringe Differenz, welche in dem einen Falle gefunden wurde.

Wir besprechen nun die einzelnen Milcharten in derselben Reihenfolge, wie es bisher immer geschehen ist, und schicken die Ergebnisse der Caseinmilchen voran.

Tabelle V. Kuhmilch.

Nr.	Fett %	Gesamt-N in 100 ccm mg	Säuremolke-N in 100 ccm mg	Labmolke-N in 100 ccm mg	Differenz zw. Säuremolke-N und Labmolke-N mg	Säuremolke-N in % Gesamt-N	Labmolke-N in % des Gesamt-N	Differenz zwisch. Säuremolke-N und Labmolke-N in % d. Gesamt-N	Labmolke-N zu Säuremolke-N
1	2,9	517,0	125,0	192,0	67,0	24,2	37,1	12,9	1,53
2	3,2	527,0	116,0	167,0	51,0	22,0	31,7	9,7	1,44
3	2,7	491,0	113,0	168,0	55,0	23,2	34,4	11,2	1,48
4	2,5	454,0	113,0	154,0	41,0	25,0	34,1	9,0	1,36
5	2,9	500,0	114,0	141,0	27,0	22,8	28,2	5,4	1,32
Büffelmilch.									
1	5,5	680,0	157,0	169,5	12,5	23,1	25,0	1,9	1,12

Kuhmilch.

Bei der Kuhmilch, wo ja schon eine größere Zahl von Bestimmungen anderer Autoren vorliegen, haben wir noch weitere fünf Proben einer Prüfung unterworfen. Die Milch

war eine Mischmilch von 10 Kühen verschiedener Rassen und entstammte dem Musterstall des „Vereins für Säuglingsfürsorge im Regierungsbezirk Düsseldorf". Stickstoff- und Fettgehalt weisen, wie aus der Tabelle V hervorgeht, Werte auf, welche mit den gewöhnlich gefundenen Durchschnittszahlen gut übereinstimmen, indem der Fettgehalt durchschnittlich gegen 3°/₀ beträgt und der Stickstoffgehalt etwa 0,5°/₀, was einem Eiweißgehalt von etwa 3,2°/₀ entsprechen würde. Der Stickstoffgehalt der Säuremolke betrug etwa 23,4°/₀ des Gesamtstickstoffes, der der Labmolke etwa 33,4°/₀. Es wurden also bei der Labfällung Stoffe, entsprechend etwa 10°/₀ vom Gesamtstickstoff, mehr in löslicher Form abgeschieden wie bei der Säurefällung. Dieses Resultat stimmt außerordentlich gut überein mit dem von Rotondi angegebenen, welcher allerdings methodisch insoweit anders vorgegangen war, als er auch bei der Labfällung noch so viel Essigsäure zugefügt hatte, wie er für die Säurefällung allein benutzt hatte. Diese Tatsache berechtigt uns wohl zu dem Schluß, daß im Prinzip der Vorgang der gleiche bleibt, ob man mit oder ohne Säurezusatz den Labungsprozeß vor sich gehen läßt.

Wir würden uns also bezüglich der Kuhmilch dahin zu resumieren haben, daß bei der Labfällung mit oder ohne Säurezusatz etwa 10°/₀ vom Gesamt-N mehr in löslicher Form abgespaltet werden wie bei der Säurefällung allein.

Büffelmilch.

Die Büffelmilch, welche wir benutzten, stammte von einer indischen Büffelkuh und wurde uns ebenfalls durch den „Verein für Säuglingsfürsorge im Regierungsbezirk Düsseldorf" zur Verfügung gestellt. Die Milch zeichnete sich dadurch aus, daß sowohl Fett- wie Stickstoffgehalt erheblich höher waren wie bei der Kuhmilch. Bei der Säurefällung ergab sich aber, daß fast genau ebensoviel Stickstoff prozentual abgeschieden wurde wie bei der Kuhmilch. Differenzen ergaben sich erst bei der Labfällung. Rein äußerlich fiel schon auf, daß die Labmolke bei weitem dunkler war als bei der Kuhmilch. Zeigte sich bei der letzteren eine etwa bernsteingelbe Färbung, so war sie bei der ersteren dunkler, fast grüngelblich von Ansehen. Bei der Stickstoffuntersuchung stellte sich dann heraus, daß

die Differenz der Säuremolke gegenüber eine sehr geringe war. Die entsprechenden Zahlen sind: 23,1 bzw. 25,02, d. h. also, es wurde bei der Labfällung nur so viel Stickstoff mehr in die Molke übergeführt, wie 2,1 % dem Gesamt-N entspricht. Wir erwähnten schon oben, daß wir leider nur eine einzige Probe untersuchen konnten, und müssen es daher dahingestellt sein lassen, ob sich nicht bei Wiederholungen andere Zahlen ergeben. Die Milch, welche wir jedoch analysiert haben, mußten wir nach den Ergebnissen folgendermaßen charakterisieren:

Die Büffelmilch zeichnet sich durch einen hohen Fettgehalt von (5,5%) und ebenfalls durch einen hohen Stickstoffgehalt von 0,68% aus, was einem Eiweißgehalt von 4,25% entsprechen würde. Die Büffelmilch würde also 1% Eiweiß mehr enthalten als die Kuhmilch. Bezüglich der Stickstoffverteilung wäre zu sagen, daß also wie bei der Kuhmilch etwa 77% dem durch Säure ausfällbaren Casein und fast ebensoviel, nämlich 75% dem durch Lab abtrennbaren Paracasein entsprechen. Für unsere spezielle Frage bezüglich des Unterschiedes der Säure- und der Labfällung würde daraus resultieren, daß bei der letzterwähnten wenig lösliche stickstoffhaltige Bestandteile mehr in die Molke übergehen als bei der Säurefällung.

Ziegenmilch.

Die Ziegenmilch stammte aus dem gleichen Musterstall wie die Kuh- und Büffelmilch. Sie hat einen Durchschnittsfettgehalt von 3,8% und einen Stickstoffgehalt von 0,564%. Das würde einem Eiweißgehalt von 3,5% entsprechen. Beide Werte sind also etwas höher als bei der Kuhmilch, entfernen sich aber nicht wesentlich davon, besonders nicht der Stickstoffgehalt. Auch in der Verteilung des Stickstoffs haben sich sehr wesentliche Differenzen gegenüber der Kuhmilch nicht ergeben. Auch hier betrug der Stickstoffgehalt der Säuremolke in Prozenten des Gesamt-N etwa 24,1%, der Labmolke 34,9%. Es ist also sowohl der absolute Prozentgehalt wie die Differenz zwischen den beiden Molkenarten nur ganz unwesentlich höher als bei der Kuhmilch. Der letztere Wert beträgt 10,2 im Vergleich zu 10,0 bei der Kuhmilch.

Tabelle VI.
Ziegenmilch.

Nr.	Fett %	Gesamt-N in 100 ccm mg	Säuremolke-N in 100 ccm mg	Labmolke-N in 100 ccm mg	Differenz zw. Labmolke-N und Säuremolke-N mg	Säuremolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N in % des Gesamt-N	Differenz zw. Säuremolke-N u. Labmolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N zu Säuremolke-N
1	3,9	571,5	157,5	192,5	35,0	27,5	33,6	6,1	1,22
2	3,9	562,0	125,0	205,0	80,0	22,2	36,4	14,2	1,64
3	3,8	559,0	126,5	185,0	58,0	22,6	33,0	10,4	1,46

Die Zusammensetzung und das Verhalten der Ziegenmilch bei der Fällung würde sich also nach den vorliegenden Untersuchungen folgendermaßen charakterisieren:

Die Ziegenmilch ist etwas fetter und stickstoffreicher als die Kuhmilch, zeigt aber sonst in ihrem Verhalten große Ähnlichkeiten mit jener. Sie läßt sich wie jene durch Lab ohne weiteres zur Gerinnung bringen und spaltet sich bei der Anwendung von Säure bzw. Lab in einer Weise, die mit der der Kuhmilch fast identisch ist. Wie die Tabelle VI zeigt, beträgt nämlich der Prozentgehalt der Säuremolke etwa 24, der der Labmolke etwa 35, so daß in der letzteren ein Überschuß an Stickstoff vorhanden ist, welcher durchschnittlich 10,2 % des Gesamt-N beträgt.

Wir möchten bei dieser Gelegenheit noch einmal kurz darauf hinweisen, daß die Labmolken, welche man bei der Verwendung unverdünnter Kuh- und Ziegenmilch erhält, nicht absolut klar sind, daß sich aber auch andererseits, wie wir schon oben erwähnten, körperliche Bestandteile nicht nachweisen lassen. Bei einer Ziegenmilch hatte sich insofern eine Schwierigkeit ergeben, als die Labmolke wesentlich trüber war als sonst. Eine Fettbestimmung mit der gewöhnlichen Gerberschen Methode ergab keine nachweisbaren Mengen. Beim Zentrifugieren bildete sich aber doch auf der Oberfläche eine weißliche Schicht, ganz ähnlich wie sie auf fetthaltigem Blutserum zu entstehen pflegt, so daß die Annahme nicht ausgeschlossen erscheint, daß dennoch feinste Fetttröpfchen die Trübung veranlaßten. Die Analyse wurde jedenfalls vorgenommen mit dem

durch Zentrifugieren geklärten Milchserum. Des weiteren sei auch darauf hingewiesen, daß der Stickstoffüberschuß in der Labmolke in Prozenten des Gesamt-N ziemlich starken Schwankungen unterworfen war, und daß die Mittelzahl 10,2 gewonnen wurde, aus Zahlen, welche zwischen 6,1 und 14,2 lagen.

Wir weisen auf diesen Umstand schon hier hin, weil wir bei Gelegenheit der Besprechung der Frauenmilch auf derartige Schwankungen noch mehr zu sprechen kommen.

Frauenmilch.

Für die Untersuchung der Frauenmilch wurden Mischmilchen verwendet, welche von den Ammen der Düsseldorfer Kinderklinik stammten. Unter diesen befanden sich Frauen in verschiedenen Phasen der Lactation, doch war zur Zeit, wo die Untersuchungen angestellt wurden, nicht eine darunter, welche nicht schon wenigstens 2 Monate lactierte. Die vorliegenden Milchen sind daher als Proben durchaus reifer Milch zu betrachten. Die Experimente, welche wir mit diesem Material angestellt haben, sind zahlreicher gewesen als die mit anderen Milcharten, weil uns Gesichtspunkte der Säuglingsernährung hauptsächlich leiteten und weil wir vor allem mit Rücksicht auf die Verhältnisse der natürlichen und der künstlichen Ernährung Vergleiche zwischen Kuh- und Frauenmilch anstellen wollten. Analoge Untersuchungen sind bisher noch nicht vorgenommen worden. Die Frage wurde seinerzeit einmal von Bienenfeld bei der Diskussion darüber angeschnitten, ob es sich bei der gleichzeitigen Einwirkung von Säure und Lab auf die Frauenmilch nur um Säurewirkung oder doch um einen fermentativen Vorgang handele. Bienenfeld glaubte seinerzeit die Frage in dem Sinne beantworten zu dürfen, daß tatsächlich nur eine Säurewirkung anzunehmen sei. Sie glaubte diesen Schluß gerade mit Rücksicht auf das Verhalten des Molkeneiweißes ziehen zu dürfen, indem sie sich und auch mit Recht sagte, daß man bei der Labung der Frauenmilch ebenso wie bei der Kuhmilch eine Vermehrung des Filtratstickstoffs zu erwarten hätte. Einige Untersuchungen, welche sie anstellte, fielen in dieser Hinsicht vollständig negativ aus, und so mußte sie denn zu dem Schluß gelangen, daß bei der kombinierten Labsäurewirkung nur die eine Komponente in Kraft tritt. Bei

der Gewinnung dieser Resultate müssen jedoch Methodenfehler irgendwelcher Art unterlaufen sein, welche wir hier nicht erörtern wollen, weil sie in einer demnächst am anderen Orte erscheinenden Arbeit eingehend diskutiert werden. Wir möchten hier noch darauf hinweisen, daß die Versuche von Bienenfeld der Beweiskraft schon deswegen entbehren, weil auch die Resultate, welche sie mit der Säurefällung erhält, so weit von denen anderer Untersucher und von unseren eigenen abweichen, daß wir berechtigt sind, sie für falsch zu halten. Während nämlich mit anderen Methoden wie auch mit der Methode der Säurefällung für den Caseinstickstoff der Frauenmilch im allgemeinen Werte erhalten werden, welche etwa 40% des Gesamt-N ausmachen, kommt Bienenfeld zu Zahlen, welche sich um 15% bewegen. Das kann unter keinen Umständen stimmen, und so glauben wir denn, daß die negativen Resultate, welche Bienenfeld bei dem Unterschiede der Säure und der Labfällung mit Bezug auf die Stickstoffverteilung gewann, ebenfalls methodische Fehler zur Last zu legen sind. Vielleicht rühren die Abweichungen daher, daß sie mit schwer gerinnender Magermilch arbeitete.

Tabelle VII.
Frauenmilch.

Nr.	Fett %	Gesamt-N in 100 ccm mg	N-Gehalt d. Säuremolke in 100 ccm mg	N-Gehalt d. Labmolke in 100 ccm mg	Differenz zw. Säuremolke-N und Labmolke-N mg	Säuremolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N in % des Gesamt-N	Differenz zw. Säuremolke-N u. Labmolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N zu Säuremolke-N
1	5,5	126,5	66,0	85,0	19,0	52,17	67,2	15,0	1,22
2	4,5	126,5	74,5	85,5	11,0	59,0	66,7	8,7	1,13
3	6,3	201,0	99,0	131,0	32,0	49,3	65,2	15,9	1,32
4	5,6	176,0	53,5	76,0	22,5	30,4	43,2	12,8	1,42
5	6,1	222,0	94,5	120,0	26,0	43,0	54,7	11,7	1,27
5a	6,1	220,0	94,0	110,5	16,5	47,0	55,2	8,2	1,18
6	6,0	213,5	86,5	103,5	17,0	40,0	48,0	8,0	1,20
7	4,8	210,0	110,0	132,5	22,5	52,4	65,1	10,7	1,20

Die Tabelle VII zeigt zunächst eindeutig, daß bei der von uns geübten und oben näher geschilderten Art der Säure- und der Labfällung der Frauenmilch sichere Unterschiede hinsichtlich der Stickstoffverteilung aufgedeckt werden. Wie auch die

einzelnen Resultate immer untereinander differieren, so viel bleibt aber immer bestehen, daß bei Verwendung des Ferments die Molke einen höheren Stickstoffgehalt aufzuweisen hat wie bei der alleinigen Fällung mit Säure. Der Stickstoffüberschuß in der Labmolke beträgt im Durchschnitt 11,4 % des Gesamt-N, und diese Zahlen wurden erhalten aus Werten zwischen 8 und 15,9 %. In einem Beispiel sogar, welches später in extenso wiedergegeben wird, betrug der Überschuß nur 5 bis 6 % des Gesamt-N. Aber eindeutig vorhanden war er auch in diesem Falle, wo er nur so gering war.

Bezüglich der Einzelheiten der Methodik sei noch darauf hingewiesen, daß in den ersten vier Beispielen der Tabelle zur Ansäuerung Salzsäure benutzt wurde, und zwar in dem Maße, daß auf 100 ccm Vollmilch 20 ccm $^{n}/_{10}$-Säure genommen wurden. In den letzten vier Beispielen wurde Essigsäure verwendet, und zwar 70 ccm $^{n}/_{10}$-Säure auf 100 ccm Vollmilch. Die Lablösung wirkte im allgemeinen 24 Stunden in der Kälte ein, nur im Fall 2 wurde die Wirkungsdauer auf 3 Stunden beschränkt. Auf den Einfluß der Dauer der Labwirkung kommen wir noch weiter unten zu sprechen.

Bezüglich der Resultate führen wir noch an, daß der Stickstoffüberschuß der Labmolke zwischen 8 und 15,9 des Gesamtstickstoffs schwankte, daß er also bis zu dem doppelten des kleinsten gefundenen Werts betragen konnte. Es hat uns nun natürlich die Frage beschäftigt, ob sich irgendwelche Beziehungen dieser Differenzen zur Zusammensetzung der Milch finden lassen. Ob etwa vielleicht große Stickstoffüberschüsse in der Labmolke einem hohen Gesamt-N oder doch wenigstens einem hohen Caseinstickstoff entsprechen. Die Tabelle, in der bezügliche Werte angegeben sind, geben jedoch keinerlei Anhaltspunkte in dieser Richtung. So war z. B. gerade im Fall 6 der Caseinstickstoff sehr groß, während der Stickstoffüberschuß sehr klein ist, und auch für das umgekehrte Verhalten finden sich Belege. Nun läßt sich freilich in dieser Hinsicht kein sicherer Entscheid treffen, ehe man nicht darüber Klarheit gewinnt, ob bei derselben Milch der Stickstoffüberschuß bei der Labung konstant ist, oder ob er nicht durch irgendwelche Einflüsse verändert werden könnte. Vor allen Dingen handelt es sich darum, festzustellen, ob nicht etwa die Dauer der Lab-

einwirkung einen Einfluß dahingehend ausübt, daß bei längerer Wirkungszeit mehr Stickstoff in die Molke abgeschieden wird wie bei kürzerer. Diese Frage ist für die Kuhmilch bzw. das Kuhmilchcasein mehrfach erörtert worden und früher auch in positivem Sinne entschieden worden, d. h. man glaubte feststellen zu können, daß bei längerer Einwirkung des Ferments auch mehr Stickstoff abgespalten werde. In der letzten Zeit hat sich jedoch, wie besonders aus den Untersuchungen von Schmidt-Nielsen hervorgeht, gezeigt, daß es sich höchstens um verschwindend kleine Mengen handeln könne, welche für die Theorie des Vorgangs nicht in Frage kommen. Wir haben nun das gleiche bei der Frauenmilch geprüft und zu diesem Zweck von der gleichen Milch den Stickstoffgehalt bei der Säurefällung festgestellt und bei Labfällung, nachdem das Ferment 15 Minuten, 3 und 24 Stunden (Labmolke I, II, III der Tabelle VIII) eingewirkt hatte. In der Tabelle VIII sind die Resultate niedergelegt.

Tabelle VIII. Einfluß der Dauer der Labwirkung auf die N-Verteilung in der Frauenmilch.

	Milch	Säuremolke	Labmolke I	Labmolke II	Labmolke III	Differenz zwischen N der Säure und der Labmolke		
						Labmolke I	Labmolke II	Labmolke III
100 Teile Milch bzw. Molke enthalten mg N	133,5	61,1	79,5	76,5	77,5	8,4	5,4	6,4
N-Gehalt in Prozenten des Gesamt-N		45,7	51,3	50,0	50,6	6,3	4,0	4,8

Sie besagen, daß eine Vermehrung des Stickstoffs in der Labmolke bei längerer Fermentwirkung unter keinen Umständen eintritt, daß eher, wenn man das aus dem einen Beispiel schließen darf, eine Verminderung erfolgt. Es scheint daher festzustehen, daß die Dauer der Labwirkung keinen Einfluß auf die Abspaltung des Molkeeiweißes ausübt, so daß also von einer proteolytischen Wirkung des Labs nicht geredet werden kann.

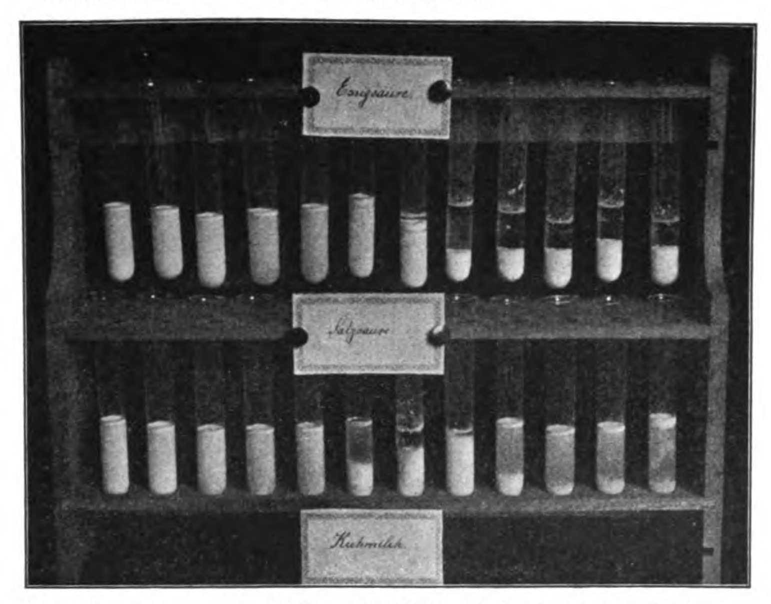


Fig. 1. Reihenversuch zur Fällung der **Kuhmilch** mit Essig- und Salzsäure. Die Röhrchen enthalten 1 ccm Milch, ${}^{n}/_{10}$-Säure 0,0, 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0 1,1. Alle Röhrchen sind auf 5 ccm aufgefüllt. Salzsäure. Optimum bei 0,6. Essigsäure. Beginn der totalen Fällung bei 0,7.

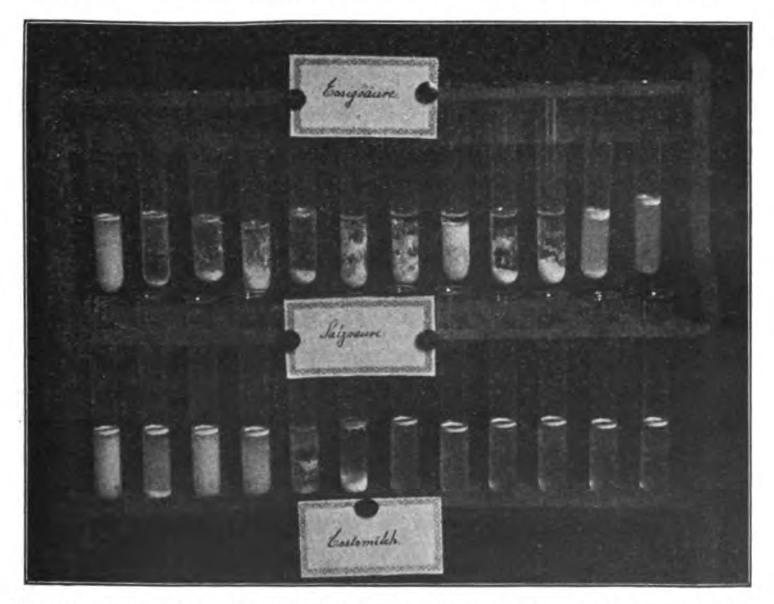


Fig. 2. Reihenversuch zur Fällung der Eselsmilch mit Essig- und Salzsäure. Die Röhrchen enthalten je 1 ccm Milch.

${}^{n}/_{10}$ {Essigsäure 0,0 0,6 0,8 1,0 1,2 1,4 1,6 1,8 2,0 2,2 2,4 2,6
{Salzsäure 0,0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0 1,1

Essigsäure. Beginn der totalen Fällung (klare Molke) bei 1,6. Salzsäure. Optimum bei 0,5. In den folgenden Röhrchen kein Niederschlag, nur starke Aufhellung.

Die Verschiedenheiten also, welche sich bei unseren Versuchen ergeben haben, sind nicht auf die Dauer der Labwirkung zu beziehen, und der relativ kleine Wert, welcher im zweiten Fall erhalten wurde, steht daher nicht damit im Zusammenhang, daß hier die Labung nur über 3 Stunden ausgedehnt wurde, im Gegensatz zu allen anderen Fällen, wo sie 24 Stunden betrug.

Es ergaben sich daher bei der Trennung der Frauenmilch durch Säure bzw. durch Säure und Lab, folgende Resultate: Der Stickstoffgehalt der Säuremolke betrug im Durchschnitt 46,7, der der Labmolke 57,2% des Gesamtstickstoffs, d. h. also, es wurde an unlöslichen Körpern an Casein bzw. Paracasein 53,3[1]) bzw. 42,8% ausgefällt. Der Überschuß an löslichen stickstoffhaltigen Bestandteilen in der Labmolke betrug im Durchschnitt 11,4% des Gesamt-N, wäre also im ganzen höher als bei der Kuh-, Büffel- und Ziegenmilch. Auf die klinische Bedeutung dieses Umstandes soll an anderer Stelle eingegangen werden.

Eselsmilch.

Das Material stammte von einer Eselin, welche etwa 4 Wochen vor den Versuchen geworfen hatte. Der Fettgehalt betrug meist 1,2, der Stickstoffgehalt schwankte zwischen 385 und 397 mg in 100 Teilen Milch, war somit beträchtlich höher wie die zuletzt von Schloßmann angegebenen Zahlen. Von diesem Autor wurde als Mittelzahl 243 mg angegeben. Bei ihm handelte es sich jedoch um eine Mischmilch von vielen Tieren, so daß der gefundene Unterschied wohl von keiner grundsätzlichen Bedeutung sein dürfte. Auch hier, wo die bei der Labfällung gewonnene Molke völlig wasserhell und klar war, konnte ein erhöhter Stickstoffgehalt gegenüber der Säuremolke festgestellt werden, wenn er auch im ganzen geringer war als bei den anderen Milcharten und besonders bei der Frauenmilch.

Die Differenz im N-Gehalt der beiden Molken betrug durchschnittlich 5,5% des Gesamtstickstoffs. Was die Stickstoffverteilung überhaupt anbetrifft, so konnte bei Säurefällung ermittelt werden, daß etwa 61,9 dem Casein angehören und nur

[1]) Es handelt sich zufällig um Milchen mit sehr hohem Caseingehalt, im Durchschnitt ist er niedriger.

38,2 den löslichen Eiweißstoffen und den Extraktivstoffen. Die Verteilung des Stickstoffs ist daher etwa umgekehrt wie bei der Frauenmilch, wo durchschnittlich 40 % des Stickstoffs auf das Casein und 60 auf die Molke entfallen. Die Wirkung des Labs in der Wärme (s. Tabelle IX) übte keinen besonderen Einfluß aus. Im Fall 1 und 3 hatte nämlich die Fermentwirkung bei 40° stattgefunden.

Tabelle IX.
Eselsmilch.

Nr.	Fett %	Gesamt-N in 100 ccm mg	Säuremolke-N in 100 ccm mg	Labmolke-N in 100 ccm mg	Differenz zw. Säuremolke-N und Labmolke-N mg	Säuremolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N in % des Gesamt-N	Differenz zw. Säuremolke-N u. Labmolke-N in % des Gesamt-N	Labmolke-N zu Säuremolke-N
1	1,2	385,5	146,5	159,0	12,5	38,0	41,2	3,2	1,08
2	1,2	397,5	168,0	—	—	42,0	—	—	—
3	1,2	387,5	139,5	164,0	24,5	36,0	42,3	6,3	1,18
4	1,4	390,5	144,5	171,0	27,5	37,0	44,0	7,0	1,2

Die Eselsmilch charakterisiert sich also als eine Milchart, welche bezüglich des Gesamteiweißgehaltes und des Caseingehaltes in der Mitte steht, zwischen der Frauenmilch und der Kuhmilch. Von den beiden genannten Milcharten unterscheidet sie sich aber ebenso wie von der Ziegenmilch dadurch, daß nur ein geringerer Prozentsatz des Gesamt-N bei der Labung mehr in die Molke übergeht wie bei der Säuerung, und zwar etwa 5,5 % vom Gesamt-N, d. i. also etwa die Hälfte desjenigen Wertes, welcher für die genannten Milcharten gilt.

Das *Gesamtergebnis* der vorliegenden Untersuchungen besteht also zunächst darin, daß auch für die *Büffel-*, *Ziegen-*, *Frauen-* und *Eselsmilch* bestätigt werden konnte, was von der Kuhmilch bereits bekannt war, daß nämlich bei der *Labeinwirkung* auf die Milch mehr lösliche stickstoffhaltige Bestandteile in der Molke vorhanden sind als bei der Fällung mit Säure. Die Mengen, um welche es sich hierbei handelt, sind immerhin nicht unbeträchtlich, sie sind doch so groß, daß ihr Stickstoff etwa 10 % des

Gesamt-N ausmacht. Nur bei der Eselsmilch findet man einen geringeren Wert. Die Büffelmilch, bei welcher wir nur eine Bestimmung machen konnten, wollen wir vorläufig aus der Diskussion lassen.

Welch nähere Vorgänge sich bei der Labung vollziehen, welchen Charakter der abgelöste stickstoffhaltige Bestandteil trägt, soll hier nicht untersucht werden, ebensowenig wie auf die Theorie der ganzen Erscheinung eingegangen werden soll. Die Natur des Prozesses hat uns vorläufig nicht beschäftigt, weil es uns eigentlich nur darum zu tun war, zu erfahren, welche Vorgänge sich im Organismus wohl bei der Milchgerinnung abspielen mögen. Das ist auch der Grund, weswegen wir nicht von Caseinlösungen, sondern von der frischen unveränderten Milch ausgegangen sind. Wenn wir dabei manchmal, besonders bei der Frauen- und Eselsmilch eine komplizierte Versuchsanordnung bei der Fällung treffen, wenn wir uns von den natürlichen Bedingungen weit entfernen mußten, so hat dies seine Begründung darin, daß wir sonst vollständige Abscheidungen nicht hätten erzielen können. Es muß daher natürlich immer noch die Frage offen bleiben, ob wir solche Vorgänge studiert haben, wie sie sich wirklich im Magen abspielen. Nach analogen Schlüssen liegt es allerdings nahe, die Frage zu bejahen. Es wird unsere weitere Aufgabe sein, uns zunächst nähere Aufschlüsse über die Natur der bei der Labung in die Molke übergehenden stickstoffhaltigen Körper zu verschaffen.

Literatur.

1. Bienenfeld, diese Zeitschr. 7, 262, 1907.
2. Engel, ibid. 13, 89, 1908.
3. Engel, ibid. 14, 234, 1908.
4. Fuld, ibid. 4, 488, 1907.
5. Fuld und Wohlgemut, ibid. 5, 118, 1907.
6. Hammarsten, zit. nach Maly, Jahresber. d. Tierchem. 4, 135.
7. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 114, 1899.
8. Kreidl und Neumann, Pflügers Archiv 123, 523, 1908.
9. Preti, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 419, 1907.
10. Rotondi, Monatsschr. f. Kinderheilk. 2, 595, 1903.
11. Schmidt-Nielsen, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 322, 1907.

Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Arzneimitteln auf die Magensaftsekretion.

IV. Mitteilung.

Über das Verhalten anorganischer und organischer Arsenverbindungen.[1])

Von

Johann Feigl und Adolf Rollett.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des patholog. Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 11. Mai 1909.)

Einleitung.

In dieser Zeitschrift teilte der eine von uns vor einiger Zeit experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Eisensalzen (1) auf den Vorgang der Magensaftsekretion mit. Nach Prüfung und Erörterung der einfachen Verhältnisse bei den Ferro- und Ferrisalzen wurde dann die Frage nach dem Verhalten eisenhaltiger Mineralquellen in Angriff genommen und zunächst in mehreren Versuchsanordnungen das Roncegno-Wasser bearbeitet (2). Indeß stand zur befriedigenden Erklärung dieses ferrisalzhaltigen Brunnens noch die Kenntnis des Verhaltens der arsenigen Säure resp. Arsensäure — eventuell deren Salze — aus. Aus einem anderen Anlasse wurde der eine von uns zur Untersuchung von metallischem Arsen geführt (3), das wir dann im Vergleich zum kolloidalen Metallpräparat untersuchten (4). Während pulverförmiges Arsen, ebenso wie einige andere, schwer angreifbare Metalle, indifferent auftrat, sahen wir die kolloidale Lösung mit stärksten Wirkungen einhergehen. Beides suchten

---

[1]) Die nachstehend mitgeteilten Versuche waren der Hauptsache nach bereits im August 1907 abgeschlossen. Ihre Publizierung wurde durch eine Reihe von Umständen: nachträgliche Prüfung neuerer interessanter Präparate sowie Belastung mit anderen Arbeiten verzögert.

wir a. a. O. zu deuten (5). Indes kann — in Übereinstimmung mit unseren dortigen Ausführungen — diese Versuchsreihe nicht als Bearbeitung der Arsenwirkung schlechthin gelten, da es sich offensichtlich um eine generelle Wirkung kolloidaler Substanzen zu handeln scheint.

Bei der Untersuchung der Arsenmedikamente auf ihr Verhalten zur sekretorischen Funktion der Magendrüsen waren wir darauf angewiesen, aus den zahlreichen vorkommenden Verwendungsformen eine Auswahl zu treffen, das Typische an möglichst einfachen Objekten zu studieren, und wir mußten uns also im ganzen der Entwicklung der Arsenmedikation überhaupt anschließen.

So war es zunächst wichtig, die anorganischen Verbindungen zu studieren. In der dreiwertigen Form waren hier die arsenige Säure als solche, sowie ihre Alkalisalze zu studieren; in der fünfwertigen mußte die Arsensäure sowie gleichfalls ihre Alkalisalze bearbeitet werden. Die große Wichtigkeit einer eingehenden experimentellen Prüfung und Erörterung der gefundenen Verhältnisse bei diesen Säuren erhellt daraus, daß die an den reinen Substanzen gewonnenen Ergebnisse bestimmt waren, einer Erklärung der Mineralwässer mit Arsengehalt zur Grundlage zu dienen. Da indeß die chemischen Verhältnisse des Zustandes in Lösung bei diesen Formen — speziell der arsenigen Säure und ihrer Salze — recht komplizierte sind und wir uns auf jede mögliche Weise in versuchstechnischer Hinsicht bemüht haben, unter Ausschluß von Fehlerquellen möglichst genau zu arbeiten, sind wir genötigt, in Anlehnung an die physikalisch-chemischen Untersuchungen über Mineralwässer die Besprechung über den Zustand der Lösungen eingehend zu besprechen (6).

Von Mineralwässern, die unserer Bearbeitung zugänglich gewesen wären, haben wir abgesehen; indes versuchten wir, das bereits von dem einen von uns geprüfte Roncegno-Wasser mit Hinblick auf die gewählten Versuchsbedingungen zu erklären. Abstand genommen haben wir ferner von der Untersuchung einer Reihe von Arzneimitteln, die in der Praxis eine Rolle spielen — z. B. der Solutio Fowleri —, da diese komplizierten Gemische Substanzen enthalten (fast stets in bezug auf das Arsenpräparat in überwältigender Menge), die in Hin-

sicht auf die Funktion der Magensaftbildung sich entgegengesetzt verhalten (7). Somit wären eindeutige Ergebnisse von sicherer Bedeutung nicht zugänglich gewesen.

Dagegen haben wir die organischen Medikamente einer Untersuchung unterworfen, soweit sie als Typen ihrer Gruppen in Betracht kommen. Die Dimethylarsinsäure (Kakodylsäure) $(CH_3)_2AsOOH$ diente uns als Vertreter der Kakodylreihe, deren wesentliches Verhalten sie anschaulich wiedergibt. Von den chemisch substituierten aromatischen Arsinsäuren haben wir Atoxyl — die „Arsanilsäure" — untersucht, ferner ein Homologes dieser Reihe, eine aus p-Toluidin erhaltene „Arsanilsäure", sowie eine stickstoffdimethylierte Arsanilsäure, endlich haben wir einen Vertreter der Oxyphenylarsinsäuren der Prüfung unterworfen.

Von dieser ganzen Reihe gilt uns Atoxyl selbst als Prototyp; Differenzen in dem physiologischen Verhalten sind durch die an dem Präparat vorgenommenen chemischen Substitutionen in unserer Versuchsanordnung einstweilen nicht zur Darstellung gelangt.

Theoretischer Teil.

Anorganische Arsenverbindungen.

Die Diskussion der Wirkung anorganischer Körper — der Elektrolyten — in ihrem Verhalten zu den Vorgängen im lebenden Organismus wird von den Vorstellungen der Ionenlehre beherrscht; für die Pharmakologie danken wir dies speziell J. Loeb (8), Dreser (9), Paul und Krönig (10), Pauli (11), Hamburger (12). Der Hauptpunkt ist die Erkenntnis, daß die Wirkungen salzartiger Körper rein additiver Natur sind, d. h., daß sie aus zwei Komponenten bestehen: der Wirkung von Kation und Anion (13). Von Pauli (14) stammt die Fassung: Salzwirkung ist Summierung der Ionenwirkungen.

Präziser sagt indes Schmiedeberg (15), die Salzwirkung ist anzusprechen als ein Komplex der Ionenwirkung und der Wirkung der ungespaltenen Moleküle. Inwieweit indeß der eine oder andere Anteil überwiegt nach absoluter Menge und demnach auch nach Wirkung, hängt vom einzelnen Falle und dann auch vom Zustande der Lösung ab. Bei den toxischen Metallverbindungen besteht nach Paul und Krönig (16) ein Parallelismus zwischen Ionenkonzentration und Wirkungsstärke. Die Einsicht von der Bedeutung dieses Vorganges hat in der Pharmakologie der Magensaftbildung ein schönes Beispiel ergeben am Jod-Ion kombiniert mit Wasserstoff-, Kalium-, Natrium-, Lithium-, Ferro-Ion (17). Hamburger wählt das anschauliche Beispiel Chinin in seinen Salzen (18);

Bei der Besprechung und Beurteilung der arsenigen Säure und Arsensäure müssen wir uns die für die jeweils verwandten Lösungsverhältnisse gültigen Ionenformen vorstellen, was im vorliegenden Falle von gewissen Schwierigkeiten begleitet ist [Ostwald (19)].

In der gewählten Konzentration geht unzweifelhaft $As_2O_3[As_4O_6]$ Arsenhexoxyd in den Zustand der orthoarsenigen Säure über: AsO_3H_3; das Arsenpentoxyd ist weit leichter einer Hydratation zugänglich — bekannt ist nur das Orthohydrat [Ostwald (20)]. Somit ist die Orthoarsensäure AsO_4H_3 zu schreiben. Letztere stellt — als bei weitem stärkere Säure — den in der Diskussion einfacheren Fall dar. Köppe (21) sowie Hintz und Grünhut (22) verdanken wir die Kenntnis der stufenweisen Ionisation mehrbasischer Säuren, in unserem Falle auch der Arsensäure. Wie bei der Orthophosphorsäure tritt zunächst in untergeordnetem Maßstabe Bildung der Ionen H' und $[H_2AsO_4]'$ ein; die Hauptstufe wird wiedergegeben durch H_2 und $[HAsO_4]''$. Für die etwaige Bildung des Endzustandes H_3 und $[AsO_4]'''$ gehen indes Köppe und Hintz und Grünhut auseinander (23). Letztere Autoren verfolgen diese endliche Stufe hier wie bei den übrigen schwachen Säuren (H_3PO_4; H_2SiO_3; H_2CO_3; H_3AsO_4), weisen ihr tatsächliches Auftreten nach, aber resumieren sich dahin, daß bei den komplizierten Salzgemischen der Mineralwässer diesem Endzustande Bedeutung nicht zukomme. Für unseren Fall reiner, nach analytischen Methoden gewonnener Lösungen glaubten wir dieses Hinweises nicht entbehren zu können. Schwieriger liegen die Verhältnisse bei der arsenigen Säure, wo wir von befriedigender Kenntnis des Zustandes in stark verdünnten Lösungen für verschiedene Fälle noch weit entfernt sind (24). In Übereinstimmung mit anderen Angaben glauben wir den Zustand H' und $[H_2AsO_3]$ unserer Betrachtung zugrunde legen zu dürfen.

Gehen wir nun zur Besprechung der einfachen Alkalisalze über, so liegen die Schwierigkeiten wieder bei der arsenigen Säure. Bei der Arsensäure liegen die Verhältnisse wie bei der Orthophosphorsäure, wo die gegen den Phenolphtnalein-Indicator neutralen Salze vom Typus $Me_2^IHPO_4$ zerfallen sind in 2 Me und $[HPO_4]$. Theoretisch wäre indes noch mit der erwähnten Dissoziation „zweiter Ordnung" von Hintz und Grünthal zu rechnen: 2 Me; H und $[PO_4]$. Außerhalb dieser Verhältnisse steht die Frage der Hydrolyse, der aber hier bei der verhältnismäßig starken Arsensäure in unserem Falle des Pawlow-Magens wohl keine Bedeutung zukommt. Beispiel: $Na_2HAsO_4 + H_2O = NaH_2AsO_4 + NaOH$. Schwieriger liegen beide Arten von Umsetzungen in wässeriger Lösung für die arsenige Säure. Ihre Salze im trockenen Zustande sind zu beziehen auf die Metasäure $HAsO_2$ — somit $NaAsO_2$. Wird ein solches Salz in Wasser gelöst, so tritt Hydratation ein, indem zweifachsaure Salze der Orthosäure entstehen (25)

$$NaAsO_2 + H_2O = \begin{matrix} NaO \\ HO \\ HO \end{matrix} \Big\rangle As$$

Für die Heilquellen mit arsenigsauren Salzen spielt also nur die orthoarsenige Säure eine Rolle; für reines Wasser wären als Ionen anzusehen hauptsächlich Na', $[H_2AsO_3]'$, der Nebensache nach „zweiter Ordnung" 2 H˙; $[AsO_3]'''$. Die Zustandsänderung $KAsO_2 + H_2O = KH_2AsO_3$ gilt nur für reines Wasser. Sind K-Ionen bei Gegenwart von OH-Ionen disponibel, so gilt $KAsO_2 + 2KOH = K_3AsO_3$ im Endzustande. D. h. die H-Ionen verschwinden ganz oder zum Teil und werden durch K-Ionen ersetzt. Da dieser Fall eintritt auch z. B. durch die sekundären Umsetzungen des Na_2CO_3, so ist er für Mineralwässer bedeutungsvoll, und wir besprechen ihn mit Rücksicht auf die Magensekretion. Von größerem Einfluß ist bei Arseniten die Hydrolyse (26). Sinkende Konzentration und steigende Temperatur treiben sie einem Maximum entgegen. Für reines Wasser gilt das Auftreten von primär: K, $[AsO_3H_2]$; durch Hydrolyse sekundär K; OH; $[H_2AsO_3]$. Für den praktisch ungleich wichtigeren, stets auftretenden Fall der Anwesenheit von Alkali oder Alkalicarbonat treten an sich schon K-, bzw. OH-(Na)-Ionen auf, welche dann die Hydrolyse rückläufig werden lassen oder ganz verhindern. Wir sagen: „Je mehr Hydrolyse, desto mehr OH-Ionen, desto mehr Auftreten einer antagonistischen Wirkung, da ja dem OH-Ion eine hemmende Wirkung auf die Sekretion beigelegt wird (27)." So würde dann also für unseren Fall einer reinen wässerigen Lösung der Sekretionsvorgang nach Intensität und Zeitausdehnung eingeengt werden.

Es ist notwendig, diese Betrachtungen in vollem Umfange anzustellen, da dann die Versuche einer besseren Deutung zugänglich werden. Zu bedenken ist ferner, daß die Wirkung auch davon abhängt, ob die Versuchslösung durch fernere Verdünnung im Magen durch mehr oder weniger an vorhandener oder allmählich erscheinender Salzsäure (H- und Cl-Ionen) wesentlich alteriert wird — ein Vorgang, der unter gleichen Versuchsbedingungen am gleichen Tiere immerhin als annähernd konstant betrachtet werden kann. Solche Verschiebungen treten indes zweifellos während des Sekretionsablaufes dauernd ein. Nun geschieht das alles an verdünnten Lösungen mit einem Minimum des wirksamen Pharmakons, demnach können diese Umsetzungen als namhaft gelten. So glauben wir die verschiedenen Gestalten des Kurvenbildes mit ihren zwei Maxima deuten zu können; da diese Uunregelmäßigkeiten stets eintreten, aber den Gesamteffekt in der endlichen Summe des sezernierten Saftes nicht ändern, so gehen sie auf Beeinflussung eben erwähnter Art zurück.

Mineralquellen.

Bei den Mineralwässern wird die Heilwirkung in der komplizierten natürlichen Mischung gesucht. Die Untersuchung hat somit zwei Fragen zu beantworten: 1. Wie wirkt das eigentliche Pharmakon in der betr. Konzentration in reiner Lösung? 2. Wie wirkt das native Gemisch? Der ersten Forderung dient die Aufklärung der besprochenen Säuren und ihrer Alkalisalze, der zweiten die Prüfung des Wassers. Es kann notwendig sein, die nächsten Begleiter zu kennen, so z. B. für Roncegno (29)

die Wirkung der Ferri-ionen, für Levico (30) der Ferro-ionen, für Cudowa (31) die der Kohlensäure usw. (32). Aus dieser Kenntnis kann man dann die Wirkung des Gemisches ableiten, indem man den (vgl. die betr. Brunnenanalysen) begleitenden Chloriden sowie anderen Salzen nur geringe Einflüsse zuzuerkennen braucht. Somit wird dann auch die Kenntnis der einzelnen Arsenwässer weiter in ihrer Untersuchung keine Schwierigkeiten bereiten. Das bereits von dem einen von uns — mit alleinigem Vorbehalt der Arsenwirkung — geprüfte Roncegno-Wasser besprechen wir anschließend. Unverdünntes Wasser gab eine Hemmung; Verdünnung mit Leitungswasser zu gleichen Teilen ließ diese geringer werden, ja selbst Kontrollversuch und Hauptversuch konnten mit gleichen Werten abschließen (33). Fernere Verdünnung gab dann steigend eine Anregung der Sekretion. Nach den Ergebnissen und Anschauungen unsrer bisherigen Mitteilungen liegt die Sache so: Im ersten Falle stehen sich die Wirkung vom Ferri-Ion und den Ionen der Säuren des Arsens entgegen; im zweiten beginnt mit fortschreitender Hydrolyse das Ferrisalz in mehr und mehr „basische" Form überzugehen; im dritten ist die Hydrolyse einem Endzustande entgegengekommen: es ist kolloidal gelöst gebliebenes $Fe(OH)_3$ entstanden. Nunmehr summieren sich dessen sekretionstreibende Effekte (34) mit denen der arsenigen Säure. bzw. Arsensäure.

Diese interessanten Ergebnisse und ihre Beleuchtung gestatten eine weitere Präzisierung, indem man den Fragen nachgeht: 1. In welchem Zustande liegen die Ferrisalze während des hydrolytischen Vorganges bei verschiedenen Verdünnungsstufen? 2. Lassen sich die Stufen der Hydrolyse ungefähr festlegen durch Konzentrationswahl, Temperaturbeobachtung und Parallelität in der zeitlichen Anordnung?

Nicht unerwähnt soll endlich bleiben, daß für die Kenntnis der Mineralwässer mit Arsengehalt — für den Zustand ihrer Bestandteile in Lösung — die Kenntnis der Quellsedimente von Bedeutung war und neuerdings wieder geworden ist. E. Ebler hat mit neuer Methode die Quellsedimente der durch Bunsen und Kirchhoff berühmten Maxquelle in Dürkheim untersucht und durch vergleichende Aufstellung seiner Zahlen lehrreiche Beziehungen gefunden (35).

Organische Arsenverbindungen.

Der Anstoß zur Verwendung organischer Derivate der Arsensäure zum Zwecke interner Verabreichung geht auf die Arbeit von Schulz zurück (36). Dieser Autor fand in der Dimethylarsinsäure

$$(CH_3)_2As{\scriptstyle \swarrow}^{O}_{OH} \quad \text{d.h.}\quad \begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!\!>As\!\!<\!\!\begin{matrix}O\\OH\end{matrix}$$

im gewissen Sinne einen Fortschritt gegenüber rein anorganischen Präparaten. Weiterhin wurde nun die Form der organischen Abwandlung in verschiedener Weise vorgenommen und es sind dann einige Haupttypen organischer Arsenderivate chemisch aus ihrem physiologischen Verhalten näher zu besprechen.

Vorher wollen wir noch den wesentlichen Ideengang dieser „Entgiftung“ der anorganischen Säuren näher ins Auge fassen. Für vorliegendes Gebiet der Pharmakologie handelt es sich um Effekte, die durch Alkylwirkung (37) erzielt wurden. Abschwächung, Milderung, Verlangsamung des toxischen Einflusses ergeben sich daraus, daß der eigentliche Charakter der Substanz nur der Stärke der Wirkung nach alteriert wird.

Für das Arsen in der dreiwertigen Stufe haben wir zu betrachten die Körper der Kakodylreihe, die von Bunsen, Baeyer und im weiteren Sinne von Michaelis studiert wurden. Genannt seien mit Hinblick auf die pharmakologischen Verhältnisse folgende Beispiele (Baeyer 38):

$$\underset{\text{I}}{\overset{Cl}{\underset{Cl}{AsCl}}} \longrightarrow \underset{\text{II}}{\overset{Cl}{\underset{Cl}{AsCH_3}}} \longrightarrow \underset{\text{III}}{\overset{Cl}{\underset{CH_3}{AsCH_3}}} \longrightarrow \underset{\text{IV}}{\overset{CH_3}{\underset{CH_3}{AsCH_3}}}$$

I ist das eminent giftige Trichlorid, das im Organismus momentan hydrolytisch zur arsenigen Säure umgesetzt wird.

IV ist das stabile Extrem dieser Reihe, das tertiäre Arsin.

II ist deutlich stärker giftig als III, wie sich aus der Betrachtung der Extreme ergibt; es ist eben leichter und schneller einem hydrolytischen Zerfalle zugänglich. Methylierung des Arsentrioxyd ergibt

$$(CH_3)_2 = As - O - As = (CH_3)_2$$

„Kakodyloxyd“, dessen Giftigkeit schon ganz wesentlich gesunken ist im Vergleich zur Muttersubstanz (Harnack).

Interessant ist die von Harnack zuerst hervorgehobene Tatsache, daß diese Beziehungen in der Reihe der Elemente As, Sb, Bi sich wiederfinden (39).

Die eben genannten Substanzen sind chemisch dadurch charakterisiert, daß sie indifferent und komplexe Nichtelektrolyte sind. Ihnen gegenüber stehen Alkylierungsprodukte vom Charakter der Säuren, die also einen wesentlich anderen Typ repräsentieren. Ihre Verabreichung hat dann mit der Tatsache zu rechnen, daß in ihnen das komplexe Anion die Grundlage der Betrachtung ist.

Hierher gehören in erster Reihe Substanzen, die auf die Arsensäure zu beziehen sind.

Die substituierten Arsinsäuren gehen zurück auf die Metaarsensäure. $HO - AsO_2$. Demnach ist die bereits genannte Dimethylarsinsäure $HOAsO(CH_3)_2$, der gleichfalls untersuchte Phenylkörper ist $HOAsO(C_6H_5)_2$. [S. Fraenkel (40).]

In engem Zusammenhange mit diesen Substanzen sei noch erwähnt die von Kobert (41) untersuchte Substanz „Triphenylarsinoxychlorid“: $(C_6H_5)_3 As \genfrac{}{}{0pt}{}{OH}{Cl}$. Die Substitution ist hier bis zur Aufnahme von drei Phenylresten vorgeschritten. Die pharmakodynamisch wesentlichen Charakteristiken des Moleküls der Arsensäure sind erhalten geblieben einmal in der (OH)-Gruppe und dann in dem Cl-Atom, das — mit Säurechloridfunktion zu denken — hydrolisierbar ist. Ferner sei ge-

dacht des von Gautier (42) zuerst untersuchten „Arrhenal“. das als Methyldinatriumarsenit aufgestellt werden soll

$$AsO(OH)_3 \longrightarrow \text{methyliert zu } \underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{AsO}}(ONa)_2.$$

Diese Substanz bietet in ihrem Verhalten nur unwesentliche Differenzen von der Dimethylarsinsäure.

Gänzlich außerhalb dieser Reihe von Verbindungen stehen Körper, die in jüngster Zeit chemisch, pharmakologisch und klinisch große Bedeutung erlangt haben. Der erste Vertreter dieser Reihe ist das Atoxyl. Bei der Erklärung des Verhaltens dieser Substanzen zur sekretorischen Funktion der Magendrüsen ist eine kurze chemische Erörterung unerläßlich. Wesentlich an ihnen ist, daß sie nicht nur der methylierten Arsensäure schlechthin entsprechen, sondern noch eine andere chemisch wirksame, resp. bedeutungsvolle Gruppe enthalten. Bechamp (43) entdeckte das Atoxyl und faßte es auf als Anilid der Orthoarsensäure, deren

$$C_6H_5NH — AsO(OH)_2$$

Salze er beschrieb. Später erschien nach gleicher Darstellung das eigentliche Handelspräparat Atoxyl, das dann in Beziehung zur Metaarsensäure als Anilid formuliert wurde

$$C_6H_5NHAsO_2.$$

Der erste, der sich mit der Erforschung dieser Substanz erfolgreich beschäftigte, war E. Fourneau (44). Er diskutierte die Verhältnisse und fand, daß nach obiger Formel ein Na-Salz mit den bekannten Eigenschaften unvereinbar sei. Hier setzten nun die Untersuchungen von P. Ehrlich und A. Bertheim ein, die einmal für die rein chemische Auffassung, ferner aber auch für das pharmakologische Verhalten und die Erklärung der Wirkung von großer Bedeutung sind (45). Da wir sie speziell für unsere Aufgabe nötig haben, folgen wir den wesentlichen Punkten der Diskussion. Erstens sind die besprochenen Substanzen keine Anilide. Aus dem Anilinsalz tritt unter Kondensation Wasser aus und es entsteht z. B. Acetanilid:

$$CH_3CO\boxed{OH \cdot H\,N}HC_6H_5.$$

Der Vorgang führt zur Beseitigung der freien Aminogruppe und kann durch Hydrolyse rückläufig werden. Ferner ist ein Ort für ein einfaches Salzbildungsvermögen nicht gegeben. P. Ehrlich bewies chemisch durch die Diazotierbarkeit die Anwesenheit der Aminogruppe und konnte mit den chemisch stärksten Mitteln Hydrolyse nicht erzielen. Dieser letzte Punkt erhellt schon aus dem Verhalten im Organismus, wo wir als Agenzien beim Sekretionsablauf die freie Arsensäure neben Anilinsalz (durch weitere Hydrolyse freies Anilin!) finden müßten. Somit wären zwei ganz getrennte Faktoren zu berücksichtigen. Tatsächlich wirkt nun Atoxyl prinzipiell wie Arsensäure resp. Kakodylsäure, wenn man die kleinen Verschiebungen außer acht läßt. Das ist zweifellos wichtig.

In Übereinstimmung mit Fourneau legen nun Ehrlich und Bertheim durch chemisch exakte Beweisführung dem Atoxyl die Formel der Aminophenylarsinsäure „Arsanilsäure“ (als Na-Salz) bei.

$$NH_2 - C_6H_5 - AsO \begin{matrix} \diagup ONa \\ \diagdown OH \end{matrix}$$

Sie steht dann auch im besten Einklang mit dem allgemeinen physiologischen Verhalten. Die Beziehung zur Magensaftsekretion wird durch die einheitliche — zu sekundären hydrolytischen Umsetzungen nicht befähigte — Formulierung eines beständigen Komplexes treffend erklärt.

Ganz außerhalb dieser Reihe organischer Verbindungen des Arsens stehen die Arsoniumbasen, die sich nach Vulpian (53) den quaternären Ammoniumbasen pharmakologisch gleichartig verhalten.

Endlich nennen wir kurz noch eine Gruppe arsenhaltiger Heilmittel, die aber ausreichend verstanden werden nach der Kenntnis des Verhaltens der anorganischen Arsensäuren. Sie sind komplex gekuppelt an andere Bestandteile, aus denen sie durch die geringsten Agenzien hydrolytisch in kürzester Frist zur Absprengung gelangen und somit nahezu unverzögert wie die Stammsubstanz wirken. Dies erhellte — ohne wesentliche Differenzierungen — aus unseren Versuchen. Da wir sehr verdünnte Lösungen verwandten, gelangten die Einflüsse der Begleitsubstanzen nicht zur Darstellung in den starken Effekten der arsenigen- bzw. Arsensäure. Solche Verbindungen sind die kolloidalen Adsorptionsverbindungen mit Albuminen, Albumosen (Knoll 54); Leim, Glutin, Gelatosen (Knoll 55), Casein usw., endlich die als Versuche eines synthetischen kombinierten Eisen-Arsenmedikamentes interessanten glycerinarsensauren Eisensalze (Knoll).

Die Glycerinarsensäure ist — vgl. Glycerinborsäure — komplex in bezug auf der Arsensäure, jedoch bedingen die Verdauungsfermente rasch und völlig Zerfall.

Verhalten im Organismus.

Von der Wirkung aus dem Verhalten der anorganischen wie organischen Arsenverbindungen im Tierleibe besprechen wir aus dem für unsere Versuche Wichtigsten das Folgende. Zu beziehen sind die Wirkungen der arsenigen Säure auf ihr Komplexion, die der Arsensäure auf das ihrige; ein individuelles As-Ion existiert nicht (56), da $AsCl_3$ z. B. die Rolle eines Säurechlorides spielt und demnach momentan einer Hydrolyse anheimfällt.

Die Wirkungen auf den Stoffwechsel sind ähnlich in der ganzen N-Gruppe des natürlichen Systems der Elemente [Hans Meyer] (57). Aus den Ergebnissen über den Ablauf des Eiweißstoffwechsels ist wichtig, daß nach v. Boeck (58) und Fokker (59) kleine Gaben keinerlei Alteration bedingen, somit konnten unsere Tiere durchaus als normal funktionierend angesehen werden (60).

Das gleiche gilt von den übrigen speziellen Wirkungen hinsichtlich des Fettstoffwechsels (61), Glykogenumsatzes (62), der Bestandteile des Blutes.

Nach Schmiedeberg liegen die vielseitigen speziellen Einflüsse in einem einheitlichen Anlasse begründet: einer Erweiterung und Hyperämie speziell der Capillargefäße (63), denen nach Feststellungen von Boehm und Unterberger (64) Blutdrucksenkung folgt.

Für die Dauer der Wirkung ist das Verbleiben im Organismus wichtig, mithin sind es die Verhältnisse der Ausscheidung, die nach zahlreichen Autoren [Lewin (65), Nothnagel (66), Almquist und Welander (67), besonders Heffter (68)] sehr verschieden gefunden und beurteilt werden. Heffter wendet sich gegen die Ansicht Welanders, daß Arsenverbindungen irgendwo deponiert würden (69).

Wesentlich ist nur, daß es im Gegensatz zu Husemanns Angaben (70) nicht in organische Bindung übertritt, sondern stets anorganisch den Körper verläßt. Die gegenteilige Ansicht ging hervor aus unsachgemäßer Beurteilung der Analytik [Vitali (71), Binz und Laar (72), Falck (73)].

Die Umsetzungen des As_2O_3 zum As_2O_5 bestehen im Sauerstofftransport, der wie bei N, P, Sb, Bi überhaupt energisch gefördert wird [Binz und Schultz (74)].

Es handelt sich um eine Beschleunigung des Zellstoffwechsels; abwechselnd tritt Reduktion und Oxydation ein. Nach Schultz ist erstere eine schwerere Giftwirkung, dementsprechend sind auch die Effekte des Arsens in dreiwertiger Form als die energischeren immer angesehen worden. Ferner geht As_2O_3 stets in As_2O_5 über und verläßt so den Tierleib. In dieser Tatsache lag bei der üblichen Analytik der Trugschluß betr. des Überganges anorganischer Formen in organische Bindung (s. o.). Endlich nennen wir noch den Befund von Nencki und Sieber, daß diese oxydativen Umsetzungen bei geringen Arsengaben eine Verminderung der Oxydationskraft des Gewebes überhaupt durchweg nicht bedingen. Sie maßen diese in sehr interessanter Weise am Übergang von Benzol in Phenol (75). Indes sind das doch wohl verschiedene Prozesse. Die Ausführungen von Binz und Schultz fanden Gegner in Filehne und Dogiel (76).

Für die Theorie der Wirkung der organischen Körper erhebt sich die folgende Frage. Wirken sie — z. B. die Kakodylsäure $(CH_3)_2AsOOH$ als komplexe Einheiten oder in Gestalt von Zerfallsprodukten? Diese Frage ist entschieden worden im letzteren Sinne. Manche haben in der allmählichen Abspaltung der wirksamen Komponente das Nützliche gesehen (vgl. Binz u. Schultz bei der Kakodylsäure) andere — Schmiedeberg — empfehlen diese Substanzen darum nicht, „weil die Spaltung erst ausgeführt werden muß“ und „dieser Vorgang mit Schwankungen und Unsicherheit einhergehen kann“ (77).

Auch in der speziellen Methodik der Magensaftsekretion hat sich die Anschauung bewährt, daß die organischen Arsenmedikamente nicht komplex, vielmehr daß sie durch allmähliche Aufspaltung wirken.

Mit Bezug auf die organischen Heilmittel muß noch erwähnt werden, daß Heffter (78) bei Verabreichung von Kakodylsäure einmal diese selbst ungespalten zum geringen Anteile im Harn auffand, aber auch arsenige und Arsensäure; und endlich konnte Schultz komplizierte Umsetzungen wahrscheinlich machen, nach dem sich ein fernerer Anteil der eingeführten Substanzen reduzierte zu flüchtigen Arsenverbindungen mit charakteristischem Geruche. Wie diese Sache beim Arsen in elementarer Form sich verhält, ist nicht untersucht, indes hat Hofmeister beim Tellur den Übergang in flüchtiges Tellurmethyl—Entgiftung aus Elimination durch Alkylierung — bewiesen (79).

Kakodylsäure, obwohl bei gleichem Arsengehalt 6mal weniger giftig als Arsensäure, ist in der Therapie unsicher geblieben; dagegen hat Atoxyl, in dem man nach Blumenthal (80) und Schild (81) ca. 50mal so viel Arsen verabreichen kann wie in Solutio Fowleri, die bekannten großen Erfolge erzielt.

Experimenteller Teil.

Technik der Versuche.

Die erörterten Verhältnisse waren maßgebend für die Anordnung und Ausführung der Experimente. Es wurde an Hunden experimentiert, die, nach Pawlow operiert, mit einem „kleinen Magen" versehen waren (82). Die Aufsammlung des Saftes geschah in der mehrfach erwähnten Weise vermittels der Magenflasche. Die Untersuchung des sezernierten Saftes wurde durchgeführt, wie früher beschrieben, durch Messung der Menge nach $^{1}/_{2}$stündlicher Abnahme, durch Titration der Säurewerte hinsichtlich der Gesamtacidität wie der „freien Salzsäure" (83). Die Fermentbestimmungen wurden nach der bereits beschriebenen Methode von E. Fuld (84) ausgeführt. Eine Anzahl Analysen verdanken wir Herrn Dr. Lewison.

Die Technik war im einzelnen die übliche, wonach „Kontrollversuch" und „Hauptversuch" am gleichen Tage einander unmittelbar folgten. Für den Kontrollversuch wurden stets 200 ccm Wasser, für den „Versuch" die gleiche Menge — kombiniert mit dem gelösten oder sorgfältig fein verteilten Präparat verwendet (85).

Besonders sorgfältig verfuhren wir mit der Herstellung der benötigten Lösungen. Um die Fehlerquellen bei den geringen Quantitäten möglichst auszuschließen, verwandten wir nur reinste Präparate von Kahlbaum sowie Merck, und benutzten analytische Meßgeräte zur Herstellung der Lösungen.

Die Tiere wurden regelmäßig mit Fleisch gefüttert und waren täglich im Versuche.

Versuchsmaterial.

A. Anorganische Verbindungen.

1. Arsentrioxyd A_2O_3 5 mg im Liter.
2. Arsentrioxyd in alkalischer Lösung als (Kaliummetarsenit gewogen) 6 mg im Liter.

Nebenversuche: Arsentrioxyd 5 mg im Liter,
- a) mit 5 g Ferrichlorid (= 2 g Eisenmetall) im Liter,
- b) mit 5 g Wismuthydroxyd im Liter,
- c) „ 5 g Natriumjodid im Liter.

3. Arsensäure, 10 mg im Liter.
4. Arsensaures Kalium (als Dikaliumarseniat K_2HAsO_4 gewogen) 15 mg im Liter.

B. Organische Verbindungen.

1. Kakodylsaures Natrium, 20 mg im Liter.
2. Atoxyl, aminophenylarsinsaures Natrium, 50 mg im Liter.

Nebenversuche: Arsanilsäure (frei) nach Ehrlich,
Dimethylatoxyl nach Michalis,
Acetylatoxyl,
Oxyphenylarsinsäure.

Versuche.

A. Anorganische Arsenverbindungen.

1. Versuche über Arsentrioxyd $As_2O_3(As_4O_6)$.

Zu den Experimenten diente eine Lösung, die 5 mg As_2O_3 (reines mikrokrystallinisches Präparat) im Liter enthielt. Sie wurde im Literkolben hergestellt und vor der Entnahme jedesmal gut durchgemischt. Zu jedem Versuche wurde genommen: 200 ccm der Lösung mit 1 mg As_2O_3.

Von der ganzen Reihe von Versuchen teilen wir drei Paare mit vollständigen Zahlen und analytischen Daten mit.

Versuche vom 14. Oktober.

1. A_2O_3, 5 mg im Liter = 1 mg in 200 ccm H_2O.

9^h. Beginn des Kontrollversuches. 200 ccm Leitungswasser an die nüchternen Tiere per os verfütttert.

Die „Wassersekretion“ gibt folgende Werte:

Zeit	Hund M. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund N. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,2	0,004	70	35	2,3	0,0064	65	30
10	0,5				0,8			
10^{30}	0,3	0,004	75	35	0,5	0,0064	65	30
11	0,2				0,2			
11^{30}	—				Spur			
12	—				—			
	2,2	Gesamtsekretion			3,8	Gesamtsekretion		

12^h. Der eigentliche Versuch, nachdem die Wassersekretion abgeklungen, 200 ccm der Arsentrioxydlösung führen zu folgenden Werten:

Zeit	Hund M. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund N. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,9	0,004	70	35	3,8	0,008	60	28
1	0,6				0,8	0,0064	65	30
1^{30}	0,7	0,004	70	35	0,9			
2	0,9				1,1	0,0064	65	30
2^{30}	0,8				0,9			
3	0,6	0,004	75	35	0,7			
3^{30}	0,3				0,5	0,0064	65	30
4	0,2				0,3			
4^{30}	—				0,2			
	6,0	Gesamtsekretion			9,2	Gesamtsekretion		

Versuche vom 9. August.

2. As_2O_3, cf. 1.

9^h Beginn des Kontrollversuches. Die nüchternen Tiere erhalten 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde.

Sie reagieren mit folgender Sekretion:

Zeit	Hund M. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund N. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	0,7				1,6			
10	0,3	0,004	75	35	0,4	0,0064	60	30
10^{30}	0,3				0,2			
11	0,2				0,2			
11^{30}	—				Spur			
	1,5	Gesamtmenge			2,4	Gesamtmenge		

12^h. Die Tiere sind nach Ablauf der „Wassersekretion“ wieder nüchtern und erhalten im Hauptversuch 200 ccm der As_2O_3-Lösung.

Hund M. Hund N.

Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,0	0,0064	70	35	4,5	0,008	60	30
1	0,8	0,004	75		1,2	0,0064	60	35
1^{30}	0,6			35	1,2			
2	1,4	0,0064	75	35	0,7	0,0064	60	35
2^{30}	0,7				0,5			
3	0,5				0,9			
3^{30}	0,3	0,004	75	35	0,5	0,0064	60	30
4	0,2				0,2			
	—				Spur			
	5,5	Gesamtmenge			9,8	Gesamtmenge		

Versuche vom 11. August.

3. As_2O_3, cf. 1.

9^h Beginn des Kontrollversuches. Die Tiere erhalten 200 ccm Leitungswasser und reagieren mit folgender Sekretion:

Hund M. Hund N.

Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,1				3,2	0,0064	60	30
10	0,6				1.8			
10^{30}	0,4	0,004	75	35	0,9	0,0064	60	30
11	0,2				0,3			
11^{30}	—				Spur			
	2,3	Gesamtmenge			6,2	Gesamtmenge		

12^h. Nach Ablauf des Kontrollversuches sind die Tiere wieder nüchtern und werden in den eigentlichen Versuch eingesetzt: 200 ccm der Arsentrioxydlösung.

Hund M. Hund N.

Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,2	0,004	75	35	4,2	0,0064	60	30
1	0,8				2,2			
1^{30}	0,4				1,0	0,0064	60	32
2	0,5				0,6	0,0064	60	32
2^{30}	0,4				0,6			
3	0,3	0,004	75	35	0,6			
3^{30}	0,2				0,3			
4	0,2				0,4	0,0064	60	30
4^{30}	Spur				0,2			
	4,0	Gesamtmenge			10,1	Gesamtmenge		

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich mit guter Übereinstimmung, daß die Zeitdauer des Abklingens der Sekretion etwa verdoppelt und der Saft der absoluten Menge nach verdoppelt, verdreifacht, ja vervierfacht erscheinen kann.

Die analytischen Ergebnisse lassen in betreff der Fermentmengen wie der Säurewerte nur unwesentliche Verschiebungen erscheinen.

Es wurden ferner Nebenversuche unternommen mit Ferrichlorid, Natriumjodid, Wismuthydroxyd, indem diese nach bereits genannten Mengen einmal kombiniert, einmal anschließend gegeben wurden. Die Ergebnisse waren, wie vorauszusehen, für $FeCl_3$ und $Bi(OH)_3$ in Kombination eine deutlich geringere Steigerung des Sekretionsablaufes nach Menge und Zeit, verglichen mit der reinen Arsenlösung. Die Verabreichung im Anschluß an die Arsenlösung erfolgte, um eine etwaige Beeinflussung der Drüsentätigkeit kennen zu lernen. Es hatten sich nämlich die Unregelmäßigkeiten im Verlaufe der Kurve — die zweiten Maxima — besonders nach Wiederholung des „Hauptversuches" im Anschluß an einen solchen gezeigt. Wesentliche Änderungen waren auch dann bei den drei typischen sekretionsbeeinflussenden Medikamenten nicht beobachtet worden.

2. Versuche über Kaliumarsenit (Arsentrioxyd in alkalischer Lösung).

Diese wurde mit gleichem Arsengehalte gewählt wie die zu den Versuchen sub I erforderliche Lösung. Die Herstellung geschah entweder durch Zusatz einer gemessenen — berechneten — Menge $^n/_{10}$-Kalilauge zur Arsentrioxydstammlösung oder durch Auswägen eines reinen Präparates von Kaliummetaarsenit ($KAsO_2$). Über den Zustand der Lösung sowie deren Verhalten unter Beigabe akzidenteller ($OH^{\cdot}$; K') Agentien haben wir oben gesprochen. Die Wirkung wird deutlich, wenn man sie als antagonistisch auffaßt.

Es findet eine deutliche Zeitverlängerung der Sekretion, indes eine nur unwesentliche Mengensteigerung statt.

Versuche vom 10. Oktober.

6. A_2O_3 (alkalisch).

Um 9^h erhalten die nüchternen Tiere 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde. Es kommt zu der „Wassersekretion" in folgenden Werten:

Hund M. Hund D.

Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saftmenge ccm
9^30	0,9	0,004	70	35	3,0
10	0,6				1,8
10^30	0,4				0,8
11	0,2				0,5
11^30	—				0,2
	2,1	Gesamtmenge			6,3 Gesamtmenge

Um 11^h 30′ ist der Vorversuch beendet und nach Abklingen der Sekrektion sind die Tiere wieder nüchtern. Sie erhalten um 12^h 200 ccm der Arsenlösung und zeigen folgende Sekretion:

Hund M. Hund D.

Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saftmenge ccm
12 30	0,3	0,004	70	35	0,5
1	0,3				0,5
1 30	0,2				1,0
2	0,5				0,5
2 30	0,7	0,004	70	35	2,4
3	0,4				2,0
3 30	0,2				0,6
4	Spur				0,3
4 30	—				0,2
—	—				—
	2,6	Gesamtmenge			8,0 Gesamtmenge

3. Versuche über Arsensäure H_3AsO_4.

Die Lösung wurde gewonnen durch Auswägen von reinem Arsenpentoxyd As_2O_5 und Lösen im Literkolben; sie enthielt im Liter 10 mg As_2O_5, somit kamen auf die Versuchsportion

200 ccm Wasser mit 2 mg As_2O_5.

Die Wirkung ist ähnlich der der niedrigeren Oxydationsstufe, außerdem beobachten wir wiederum das diskontinuierliche Ansteigen der Sekretion.

Nach Menge und Zeit tritt etwa Verdoppelung in der Saftbildung ein.

Die analytischen Daten, die wir auch hier zwei Versuchen beigeben, sind nicht geeignet, wesentliche Differenzen in der Zusammensetzung des Saftes anzuzeigen.

Anschließend ist mitgeteilt der Versuch an

4. Kaliumarseniat K_2HAsO_4.

Die Lösung wurde gewonnen aus reinem Dikaliumorthoarseniat; sie enthielt 15 mg im Liter.

Damit entfallen auf die Versuchsportion 3 mg in 200 ccm Wasser.

Die Wirkung ist ähnlich, etwas schwächer als die der freien Säure; jedenfalls ist sie verschieden von der des Kaliumarsenites, was uns aus theoretischen Erwägungen ganz wohl verständlich scheint, da an den zwei Salzen die Hydrolyse verschieden stark auftritt.

Versuche vom 8. August.

1. A_2O_5 10 mg in 1000 ccm H_2O.

9^h. Die nüchternen Tiere erhalten 200 ccm Wasser mit der Schlund sonde und zeigen einen Sekretionsverlauf, der nach 2 Stunden beendet erscheint.

Zeit	Hund M. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund N. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5	0,004	70		3,6	0,0064	60	30
10	0,7			35	1,2			
10^{30}	0,5	0,004	70		0,6	0,0064	60	30
11	0,2				0,4			
11^{30}	—				0,2			
	2,9 Gesamtsekretion				6,0 Gesamtsekretion			

Um 12^h erhalten die nüchternen Tiere 200 ccm der Arsensäurelösung. Es kommt zu folgender Sekretion:

Zeit	Hund M. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund N. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	2,5	0,008	60	30	6,0	0,01		
1	0,9				1,2	0,01	50	28
1^{30}	0,9	0,0064	65	35	0,9			
2	0,8				1,2	0,008	55	28
2^{30}	0,7				1,0			
3	0,5	0,004	70	35	0,6			
3^{30}	0,4				0,3	0,0064	60	30
4	0,2				0,2			
4^{30}	—				—			
	6,9 Gesamtmenge				11,4 Gesamtmenge			

Versuche vom 11. Oktober.

2. A_2O_5 10 mg in 1000 ccm H_2O.

9^h Beginn des Kontrollversuches. Die nüchternen Tiere erhalten 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde.

Hund B. Saftmenge ccm	Zeit	Hund D. Saftmenge ccm
2,5	9^{30}	3,3
1,2	10	2,0
0,6	10^{30}	0,9
0,3	11	0,5
0,2	11^{30}	0,2
—	12	Spur
4,8 Gesamtmenge		6,9 Gesamtmenge

Um 12h ist die Wassersekretion beendet, und die wieder nüchternen Tiere erhalten um 12³⁰ 200 ccm der Arsensäurelösung.

Hund B. Saftmenge ccm	Zeit	Hund D. Saftmenge ccm
3,0	1	3,6
1,0	1³⁰	2,8
1,2	2	—
0,9	2³⁰	1,2
1,0	3	1,0
0,8	3³⁰	1,0
0,6	4	0,6
0,5	4³⁰	0,4
0,3	5	0,2
0,2	5³⁰	—
9,5 Gesamtmenge		10,8 Gesamtmenge

Versuche vom 12. Oktober.

3. A_2O_5 (alkalisch).

9h Beginn des Kontrollversuches. Den nüchternen Tieren wurde mit der Schlundsonde 200 ccm Wasser verabreicht. Sie ergaben folgenden Sekretionsverlauf:

Hund B. Saftmenge ccm	Zeit	Hund D. Saftmenge ccm
2,5	9³⁰	3,2
1,3	10	2,2
0,7	10³⁰	1,0
0,3	11	0,5
Spur	11³⁰	0,2
—	12	—
4,8 Gesamtmenge		7,1 Gesamtmenge

Nach dem Abklingen des Kontrollversuches erhalten die Tiere um 12³⁰ 200 ccm der Arsensäurelösung.

Hund B. Saftmenge ccm	Zeit	Hund D. Saftmenge ccm
1,6	1	2,5
2,0	1³⁰	2,0
1,4	2	1,5
—	2³⁰	2,0
0,6	3	1,0
0,3	3³⁰	0,6
0,3	4	0,4
0,2	4³⁰	0,2
—	—	—
6,4 Gesamtmenge		10,2 Gesamtmenge

B. Organische Verbindungen.

1. Kakodylsäure $(CH_3)_2AsOH$.

Die Technik der Versuche war die gleiche. Da aus der Reihe der anderweitig nicht substituierten Arsensäuren die Kakodylsäure als Beispiel gelten kann. und sonst nur unwesentliche Differenzen zur Darstellung gelangten, deren Beurteilung innerhalb der durch das gesamte Verfahren gegebenen Fehlerquellen lag, so teilen wir anschließend zwei Versuchspaare an dieser Substanz mit; bei zweien sind die analytischen Befunde mit genannt.

Die Wirkung des Präparates ergibt sich aus den Zahlenwerten; Differenzen in der Zusammensetzung des Magensaftes ließen bindende Schlüsse nicht zu.

Die Versuchsportion bestand aus 200 ccm Wasser mit 5 mg Präparat.

Versuche vom 7. August.

1. Kakodylsaures Natrium.

9^h Beginn des Kontrollversuches. Die nüchternen Tiere erhalten 200 ccm Wasser per os. Daraufhin folgende Sekretion:

	Hund M.				Hund N.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5				2,2			
10	0,7				0,8			
10^{30}	0,3	0,004	70	35	0,4	0,0064	60	30
11	0,2				0,2			
11^{30}	—				Spur			
	2,7	Gesamtmenge			3,6	Gesamtmenge		

Um 11^{30} ist diese „Wassersekretion" beendet und die Tiere wieder nüchtern. Sie erhalten um 12^h 200 ccm Wasser + 5 mg kakodylsaures Natrium.

	Hund M.				Hund N.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	2,0				3,0	0,01	55	28
1	1,6	0,0064	65	32	2,2	0,01	55	30
1^{30}	1,2				1,6			
2	0,6				1,2	0,008	50	30
2^{30}	0,8				1,0			
3	0,6	0,004	70	35	0,8			
3^{30}	0,5				0,6			
4	0,2				0,4	0,0064	60	30
—	—				0,2			
	7,5	Gesamtmenge			11,0	Gesamtmenge		

Versuche vom 20. Oktober.

Kakodylsaures Natrium.

Um 9h erhalten die nüchtern aufgestellten Tiere 200 ccm Leitungswasser mit der Schlundsonde. Sie reagieren mit folgender Sekretion:

Hund B. Hund D.

Saftmenge ccm	Zeit	Saftmenge ccm
2,8	9 30	2,2
1,2	10	2,0
0,7	10 30	1,3
0,4	11	0,7
0,2	11 30	0,2
5,3 Gesamtmenge		6,4 Gesamtmenge

Um 11 30 ist der Vorversuch beendet, die „Wassersekretion" abgeklungen. Die Tiere erhalten um 12h 200 ccm Wasser, enthaltend 5 mg des Präparates.

Hund B. Hund D.

Saftmenge ccm	Zeit	Saftmenge ccm
3,5	12 30	4,5
2,8	1	3,5
2,2	1 30	2,7
1,5	2	2,3
1,3	2 30	1,6
0,7	3	0,8
0,5	3 30	0,6
0,3	4	0,4
0,3	4 30	0,2
0,2	5	0,2
13,3 Gesamtmenge		16,8 Gesamtmenge

2. Atoxyl (aminophenylarsinsaures) „arsanilsaures" Natrium.

Atoxyl gilt uns mit Hinsicht auf die mitzuteilenden Versuche als Typ einer ganzen Reihe von Medikamenten, die sämtlich arylierte Arsinsäuren sind, aber als wesentliche Beigabe noch eine chemisch wirksame Gruppe enthalten. Zu der oben gegebenen theoretischen Übersicht ist nur noch beizufügen, daß die freie Aminophenylarsinsäure nach Ehrlich (87) noch deutlich basische Eigenschaften hat. Der daraus durch Diazo-Umsetzung zugänglichen Oxyphenylarsinsäure kommen doppelte

Säureeigenschaften zu — als Säure einmal und ebenso als Phenol, wovon wir uns überzeugten. Es besteht hier eine gewisse Ähnlichkeit mit Tyrosin, in dem trotz der Aminosäurenatur der Säurecharakter des Phenolhydroxyls erhalten bleibt.

Wir haben als „Nebenversuche" eine Reihe von Substanzen mit bearbeitet, was uns mit Hinblick auf die jetzt wichtige Entwicklung dieser Therapie geboten schien. Wir nennen 1. das Michaelissche Dimethyl-Atoxyl, das in bezug auf die Aminogruppe eine tertiäre Base ist, 2. ein acetyliertes Atoxyl, das zum Stammatoxyl in einer Beziehung steht, wie Acetanilid zum Anilin und ferner 3. ein aus o-Toluidin gewonnenes, im Ringe substituiertes Atoxyl, endlich 4. die Oxyphenylarsinsäure.

Alle diese Typen sind nach ihrem chemischen, damit auch biologischen Reaktionswerte deutlich verschieden. Nur gelingt es nicht, in unserer Methodik Wirkungsdifferenzen anschaulich zu machen. Ihre Einflüsse sind durchweg ähnlich dem des reinen Atoxyls, von dem wir somit zwei Versuchspaare — eines davon mit Analysenwerten — mitteilen. Aus ihnen gehen die Mengen und Zahlenverhältnisse hervor, denen weiterhin nichts beizufügen ist. Auch die nach P. Ehrlich dargestellte freie Arsanilsäure ergab keinerlei Differenzen.

Versuchsportion: 200 ccm Wasser mit 0,01 g Atoxyl.

Versuche vom 6. August.

Atoxyl.

Um 9h erhalten die nüchtern aufgestellten Tiere mit der Schlundsonde 200 ccm Wasser. „Wassersekretion" in folgenden Werten:

	Hund M.				Hund N.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9.30	1,3				2,2			
10	0,7				0,8			
10.30	0,5	0,004	70	35	0,5	0,0064	60	30
11	0,2				0,2			
11.30	Spur				Spur			
	2,7	Gesamtmenge			3,7	Gesamtmenge		

Um 11.30 ist der Kontrollversuch beendet. Die nüchternen Tiere erhalten um 12h 200 ccm Wasser, enthaltend 0,01 g Atoxyl. Daraufhin folgende Sekretion:

	Hund M.				Hund N.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	2,2	0,008	65	32	2,6	0,008	50	28
1	2,0				2,4			
1^{30}	1,7	0,0065	63	32	2,2	0,01	50	25
2	1,3				1,8			
2^{30}	0,8	0,004	60	35	1,7			
3	0,6				1,3	0,0064	60	28
3^{30}	0,4				0,8			
4	0,2				0,6	0,0064	60	30
4^{30}	0,2				0,4			
5	—				0,2			
	9,4	Gesamtmenge			14,0	Gesamtmenge		

Versuche vom 21. Oktober.

Atoxyl.

Beginn des Kontrollversuches um 9^h. Die nüchternen Tiere erhalten 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde. Sie zeigen eine Sekretion in folgenden Werten:

Hund M. Saftmenge ccm	Zeit	Hund N. Saftmenge ccm
2,6	8^{30}	2,2
1,2	10	2,0
0,7	10^{30}	1,6
0,3	11	0,7
0,2	11^{30}	0,5
Spur	12	0,2
5,0 Gesamtmenge		7,2 Gesamtmenge

Um 12^h war der Vorversuch beendet. Die wieder nüchternen Tiere erhielten 200 ccm Wasser mit 0,01 g Atoxyl. Sekretion wie folgt:

Hund M. Saftmenge ccm	Zeit	Hund N. Saftmenge ccm
4,0	12^{30}	5,0
3,2	1	4,4
2,8	1^{30}	3,6
2,0	2	2,5
1,6	2^{30}	2,3
1,4	3	1,8
0,9	3^{30}	1,2
0,6	4	0,9
0,5	4^{30}	0,5
0,2	5	0,4
Spur	5^{30}	0,2
17,2 Gesamtmenge		22,8 Gesamtmenge

Zusammenfassung.

In der vorstehenden Arbeit wurde gezeigt, daß die anorganischen Komplexionen des Arsens einen steigernden Einfluß auf die Sekretionstätigkeit der Fundusdrüsen ausüben. An den Beispielen der arsenigen wie Arsensäure konnten die starken Wirkungen deutlich veranschaulicht werden. Für die Salze liegen die Verhältnisse ähnlich, gleichwohl greifen sekundäre Umsetzungen (Hydrolyse) in antagonistischem Sinne ein. An der Hand dieser Versuche haben sich Ausblicke für die Beurteilung der Mineralwässer ergeben; am Roncegno-Sprudel konnte im Zusammenhang mit früheren Experimenten eine Deutung durchgeführt werden. Gleichfalls energisch sekretionstreibend erwiesen sich die organischen Komplexderivate sowohl der Kakodylreihe wie der substituierten Arylarsinsäuren. Ihnen sind sämtlich starke Einflüsse eigen, ohne daß für die feineren chemischen Unterschiede Modifikationen in der Wirkung sich geäußert hätten.

Literatur.

1. Joh. Feigl, diese Zeitschr. 6, 17, 1907.
2. Joh. Feigl, ebenda 6, 41, 1907.
3. Joh. Feigl, ebenda 6, 47ff., 1907.
4. Joh. Feigl und Ad. Rollett, diese Zeitschr. 8, 145ff., 1908.
5. Joh. Feigl und Ad. Rollett, ebenda, 8, 179, 1908.
6. Joh. Feigl, ebenda.
7. Kast, Einfluß des Alkohols, zit. nach Oppenheimer, Handbuch d. Biochemie. — Einfluß des Zuckers, Artikel Magen usw. von Bickel.
8. Loeb, Pflügers Archiv 88, 68; 91, 248. — Loeb u. Gies, 93, 246.
9. Dreser, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 32, 456.
10. Paul und Krönig, Zeitschr. f. physikal. Chem. 21, 414, 1896. — Dieselben, Zeitschr. f. Hygiene 25, 1, 1897.
11. Pauli, W., Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 4. — Derselbe, Bedeutg. Physikal. Chem. f. Med., Wien 1902.
12. Hamburger, Osmot. Druck u. Ionenlehre, 1, 1. Teil, 37ff., 1902.
13. Hamburger, ebenda 3, 223, 1904.
14. Pauli, l. c.
15. Schmiedeberg, Lehrbuch. 3. Aufl., 1906; vgl. auch Hamburger, l. c. 3, 259, 1904.
16. Paul, Entwurf. z. einh. Best. chem. Desinfekt.-Mittel, Berlin 1901; vgl. auch Hamburger, l. c. 3, 270, 1904.
17. Joh. Feigl, diese Zeitschr. 8, 467, 1907.
18. Hamburger, 3, 223, 1904.
19. In bezug hierauf vermißt man in den meisten chemischen Lehrbüchern Angaben. Eine schöne Erörterung bringt Ostwald: Grundlinien d. anorgan. Chem., S. 717ff.

20. Ostwald, ebenda S. 722; vgl. aber auch die kurzen Angaben in Treadwell, Lehrbuch d. analyt. Chem. 1, 5. Aufl., 180, 1907.
21. Koeppe, Physikal. Chem. i. Medizin, Wien 1900. — Strauß, Koeppe u. a. — Deutsche Medizinalzeitg., Mai 1908, 421.
22. Hintz u. Grünhut, Chem. usw. Untersuchung des Rhenser Sprudels, Wiesbaden 1902. — Dieselben, Chem. usw. Untersuchung des gr. Sprudels Neuenahr, Wiesbaden 1902. — Grünhut, Zeitschr. f. angew. Chem. 1902, 648. — Derselbe, Balneolog. Centralzeitg. (Referat) 1903.
23. Hamburger, ebenda 3, 299, 1904.
24. Die Hydratformen, siehe Ostwald, l. c. S. 717.
25. Kurze Angabe bei Treadwell, l. c. S. 178ff.
26. Siehe bei Ostwald, l. c., und Treadwell, l. c.
27. Hydroxylion hemmt den Sekretionsverlauf (Bickel).
28. Siehe unten.
29. Chem.-Zeitg. 1886, 145.
30. E. Ludwig und v. Zeynek, Wiener klin. Wochenschr. 1898.
31. Deutsches Bäderbuch unt. Mitw. v. Reichsges.-Amt, Leipzig 1907, S. 332.
32. Pinkussohn, Weidert, (zit. nach Oppenheimer cf. 7).
33. Joh. Feigl, diese Zeitschr. 6, 41, 42, Versuche vom 27. u. 28. Juli.
34. Derselbe, ebenda S. 32ff. — Joh. Feigl und A. Rollett, ebenda 9, 145ff., 1908.
35. Ebler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 1804, 1907. — Verhandl. Nat. med. Verein Heidelberg N. F. 8, 435, 1907.
36. Schulz, zit. nach S. Fraenkel, Arzneimittelsynthese, 2. Aufl. 1906.
37. Harnack, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 9, 152; Entgiftung durch Alkylwirkung.
38. Baeyer.
39. Harnack, l. c.
40. A. Fraenkel, Arzneimittelsynthese, 2. Aufl., Berlin 1906; Abstufung der Wirkung b. Monophenyl- und Diphenylarsinsäure.
41. Kobert, Therap. d. Gegenw. 2, 159, 1903.
42. Gautier, Presse med. 1902, 791, 824.
43. Bechamp, Compt. rend. 56, I., 1172, 1863.
44. Fourneau, Journ. Pharm. Chim. 25, 332, 1907.
45. P. Ehrlich und Bertheim, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 3292, 1907. — Berl. klin. Wochenschr. 1, 10, 1907.
46. Michaelis, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1516, 1908; daselbst Angaben früherer Arbeiten, hierfür wichtig besonders Liebigs Annalen 320, 295, 1901; ebenda 270, 139, 1894. — Loesner, Dissertation, Rostock 1893.
47. Oskar Adler und Rudolf Adler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 931, 1908.
48. Benda u. Kahn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1642, 1908.
49. Benda, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 2250, 1908.
50. Benda, l. c.
51. Bertheim, ebenda 41, 1655, 1908. — Bertheim, ebenda 41, 1853, 1908.
52. D. R. P. 1909.
53. Vulpian, Arch. f. d. ges. Physiol. 1, 472.
54. Knoll, D. R. P. 135, 306.
55. Knoll, D. R. P. 135, 307.

56. Schmiedeberg, Lehrbuch, l. c.
57. Hans H. Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14, 313, 1881; daselbst 15, 335; 16, 453.
58. v. Boeck, Zeitschr. f. Biolog. 12, 512, 1876.
59. Fokker, Voits Handbuch, 1881, S. 182.
60. Vgl. H. Meyer, l. c.; Kossel, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 5, 128; Berg, Diss., Rostock 1881; Gaethgens Centralbl. f. med. Wiss. 1875, 29 und 1876, 833.
61. Gies, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 175, 1877; vgl. auch Ziegler und Obolensky, Beiträge z. pathol. Anatomie, 1902.
62. Morishima, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43, 217, 1899.
63. Schmiedeberg, Lehrbuch, 3. Aufl., 1906, l. c.
64. Boehm und Unterberger, zit. nach Schmiedeberg.
65. Lewin, Lehrb. d. Toxikologie, 2. Aufl., 1897.
66. Nothnagel und Rossbach, Handbuch, 7. Aufl.
67. Almquist und Welander, Nord. med. Arkiv 21, 1900.
68. Heffter, Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte, München, 2, 50, 1900. Heffter gibt ein übersichtliches vollständiges Autorenverzeichnis in Asher-Spiro, Ergebnisse d. Physiologie; Biochemie, 2, 1904 unter: „Ausscheidung körperfremder Stoffe im Harn I".
69. Heffter, l. c.; vgl. auch Ludwig und Zillner, Wiener med. Blätter 1890.
70. Husemann, Deutsche med. Wochenschr. 1892, 1081.
71. Vitali, zit. nach Heffter, l. c.
72. Binz und Laar, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 38, 259, 1897. — Dieselben, ebenda 41, 179, 1898.
73. Falck, Dissertation, München 1901.
74. Binz und Schultz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 13, 256; 14, 345.
75. Nencki und Sieber, Journ. f. prakt. Chem. 26, 1, 1882. — Dieselben, Pflügers Archiv 31, 319, 1883.
76. Dogiel, Pflügers Archiv 24, 328, 1881.
77. Schmiedeberg, Lehrbuch.
78. Heffter, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 230.
79. Hofmeister, zit. nach Fränkel, Arzneimittelsynthese, Berlin 1906.
80. Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr. 15, 1902.
81. Schild, Berl. klin. Wochenschr. 1902, 279.
82. vgl. Feigl, diese Zeitschr. 6, 19, 1907.
83. Derselbe, ebenda.
84. Vgl. Feigl, diese Zeitschr. 6, 20, 1907.
85. Vgl. die früheren Mitteilungen von uns.
86. Joh. Feigl, diese Zeitschr. 8, 145, 1908.
87. P. Ehrlich, l. c., Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 3292, 1908.

Die elektrische Ladung des Serumalbumins und der Fermente.

Von

L. Michaelis.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(*Eingegangen am 19. Juni 1909.*)

Die Versuche über die Wanderung der Fermente im Stromgefälle veranlaßten mich, auch die früher von Hardy[1]) und Pauli[2]) studierten Erscheinungen am Serumeiweiß in gleichem Sinne zu verfolgen. Hardy arbeitete nur mit denaturiertem Eiweiß, so daß die einzigen Angaben über das unveränderte Eiweiß von Pauli stammen. Seine Resultate waren etwa folgende: In elektrolytfreier wässeriger Lösung zeigt das Serumeiweiß keinerlei elektrische Ladung und bewegt sich im Stromgefälle gar nicht; erst durch die Gegenwart von Säuren erhält es positiven, durch die von Basen negativen Charakter, während Neutralsalze keine einsinnigen Resultate geben, denn sie bewirken eine Zurückdrängung des Eiweißes von beiden Polen.

Betrachten wir zunächst die Methodik dieser Autoren. Eine Eiweißlösung, welche auf drei durch Heber miteinander verbundene Gefäße verteilt wird, wird zwischen Platinelektroden der Elektrolyse unterworfen und nach ausreichender Zeit die Verschiebung des Eiweißgehaltes in diesen drei Gefäßen analysiert. Bei völliger Freiheit von Elektrolyten war also keine Verschiebung zu konstatieren. Hierbei erscheint mir nun auf Grund der neueren Erfahrungen folgender Einwand möglich. Das allerreinste Laboratoriumswasser, selbst

[1]) Hardy, Journ. of physiol. 24, 288, 1899.

[2]) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 531, 1906.

Leitfähigkeitswasser von einer spez. Leitfähigkeit von 10^{-6}, enthält noch so viel fremde Elektrolyte, daß die Ionen des reinen Wassers an der Stromleitung nur zum verschwindenden Teil beteiligt sind. Daher bleibt auch bei der Elektrolyse von reinstem Wasser die saure bzw. alkalische Reaktion an den Polen nicht aus, wenn auch nicht immer mit Lackmuspapier, so doch mit Lackmuslösung nachweisbar. Da aber das Eiweiß an der sauer reagierenden Anode positiv, an der alkalisch reagierenden Kathode negativ umgeladen werden muß, so wird es von beiden Polen zurückgestoßen; andererseits wird die Stärke der Ladung bei der geringen Reaktionsänderung nur gering sein; auch wird, wenn das Wasser sehr rein ist, bis zur Ausbildung wirksamer Reaktionsänderung einige Zeit vergehen; kurz, die Verhältnisse sind nicht sehr gut reproduzierbar, und als durchschnittliches Resultat wird sich ergeben, daß das Eiweiß überhaupt keine bestimmte Wanderungsrichtung zeigt. So entstand die Lehre, daß das Eiweiß in elektrolytfreier Lösung im Strom nicht wandere.

Will man etwas Sicheres über die Ladung des Eiweißes aussagen, so muß man die Entstehung saurer und alkalischer Reaktion aufs peinlichste vermeiden. Lieber kann man in Kauf nehmen, daß kleine Mengen Neutralsalz in die Lösung geraten, denn das ist aus den vorliegenden Untersuchungen sicher, daß diese keinen oder wenigstens in geringen Konzentrationen keinen merklichen Einfluß haben. Diese Bedingung kann nun leicht erfüllt werden, wenn man sich der von mir für die Fermente angegebenen Anordnung bedient, nämlich z. B. als Kathode Cu in $CuCl_2$ und als Anode Ag in ClNa benutzt und das Eiweiß nur in das Mittelgefäß einfüllt, so daß die ganze Anordnung ist:

+	Ag in ClNa-Lösung	Leitfähigkeitswasser	Gegen Leitfähigkeitswasser dialysierte Albuminlösung	Leitfähigkeitswasser	Cu in $CuCl_2$ —
	I	II	III	IV	V

Das Eiweiß war Pferdeserumalbumin, durch Halbsättigung des Serums mit Ammonsulfat dargestellt, indem das Filtrat erst gegen gewöhnliches destilliertes Wasser, dann gegen Leitfähigkeitswasser dialysiert wurde, bis die Leifähigkeit zwischen der des destillierten und des Leit-

fähigkeitswassers lag. Dieses Eiweiß wurde in einer Konzentration von nicht mehr als etwa 1 pro mille in den Apparat eingefüllt.

Durch reine Diffusion gelangt sehr wenig von den Elektrolyten der Räume I und V in die mittleren Räume. Das zeigen folgende Versuche:

	Spez. Leitf. vorher		Nach 24 St. Stromdurchg.	
	Vers. 1	Vers. 2 [1]	Vers. 1	Vers. 2
Anodenflüssigkeit aus Raum II	$< 2 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	$220 \cdot 10^{-6}$	$100 \cdot 10^{-6}$
Mittelflüssigkeit (Eiweiß) III	ca. $5 \cdot 10^{-6}$	$25 \cdot 10^{-6}$	$200 \cdot 10^{-6}$	$200 \cdot 10^{-6}$
Kathodenflüssigkeit IV	$< 2 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	$240 \cdot 10^{-6}$	$80 \cdot 10^{-6}$

Eine Leitfähigkeit von $200 \cdot 10^{-6}$ entspricht einer etwa $^1/_{600}$-norm. KCl-Lösung, also einem zu vernachlässigenden Elektrolytgehalt, wofern die Reaktion nur neutral bleibt.

Diese Versuche zeigten nun, daß bei gut erhaltener neutraler Reaktion in allen Räumen das Eiweiß stets eindeutig anodisch wanderte.

Sobald die Flüssigkeit nur mit $^1/_{10\,000}$ Vol. Essigsäure versetzt wurde, wanderte es einsinnig rein kathodisch. Wir können also zwischen der neutralen Reaktion des Wassers ($[H^{\cdot}] = 10^{-7}$) und der Reaktion dieser Essigsäurelösung ($[H^{\cdot}]$ um 10^{-5}) einen Aciditätsgrad von $[H^{\cdot}] =$ ca. 10^{-6} interpolieren, bei dem das Eiweiß isoelektrisch ist.

Ein so niederer Aciditätsgrad ist nun an sich schwierig zu reproduzieren. Ganz leicht gelingt es aber, wenn man sich eines Kunstgriffes bedient, den schon v. Szily[2], Salm[3]) und Friedenthal[4] angewendet haben, indem man nämlich in Lösung saures und basisches Natriumphosphat in passendem Verhältnis mischt. Man kann so jeden gewünschten Aciditätsgrad herstellen gerade in dem Bereich derjenigen Reaktionen, die durch reine Säuren und Laugen schwer zu reproduzieren sind. Durch Probieren machte ich mir nun eine Stammlösung von Phosphaten, mit ca. $^1/_4\,^0/_0$ Natriumphosphat, welche, 200fach mit Wasser verdünnt, einen $H^{\cdot}$-Gehalt von $1{,}0 \cdot 10^{-6}$ hatte. Diese Reaktion wurde mit Hilfe einer Wasserstoffkonzentrationskette folgender Anordnung

$$PtH_2 \;\Big|\; \text{Phosphatlösung} \;\Big|\; \text{n KCl} \;\Big|\; \text{n KCl} + 0{,}01\ \text{HCl} \;\Big|\; PtH_2$$

[1]) Mit gewöhnlichem destillierten Wasser.

[2]) von Szily, zitiert von Salm.

[3]) Salm, Zeitschr. f. Elektrochem. 1904, 341.

[4]) Friedenthal, Naturf.-Versammlung Kassel, 1903.

bestimmt. Nun wurde ein Überführungsversuch folgendermaßen angeordnet:

+	Ag in unverdünntem Phosphatgemisch	Phosphatgemisch 1:200	2‰ Albumin in Phosphatlösung 1:200	Phosphatgemisch 1:200	Cu in $CuCl_2$	—

Nach 24stündigem Stromdurchgang war die Reaktion der drei mittleren Flüssigkeiten gegen Lakmuslösung gleich geblieben, und es enthielt

die Anodenflüssigkeit ca. ½‰ Eiweiß,
die Mittelflüssigkeit ca. 1‰ „
die Kathodenflüssigkeit ca. ¼‰ „

Es ist also die isoelektrische Reaktion für Eiweiß ziemlich genau getroffen, und wie schon früher bei den Fermenten[1]) zeigt sich im isoelektrischen Punkt nicht etwa ein Stillstand des Eiweißes, wie man auf Grund der älteren Versuche annehmen mußte, sondern eine beiderseitige Wanderung. Bei isoelektrischer Reaktion fehlt also nicht die Ladung des Eiweißes, sondern es sind gleich viel positive wie negative Teilchen vorhanden. Dagegen ergab sich bei einem entsprechenden Versuch mit einem Phosphatgemisch von $[H^+] = 1{,}1 \cdot 10^{-7}$ (also schon sauer gegen Lackmus) noch rein anodische Wanderung des Albumins, bei $8 \cdot 10^{-7}$ wiederholt fast rein anodische Wanderung.

Die isoelektrische Reaktion hat nun eine ganz besondere theoretische Bedeutung, die aus folgender Überlegung klar wird. Nach dem Massenwirkungsgesetz ist

$$k_a \,[\text{undissoz. Albumin}] = [H^+] \cdot [Alb^-]$$

und

$$k_b \,[\text{undissoz. Albumin}] = [OH^-] \cdot [Alb^+].$$

Hier ist k_a die Dissoziationskonstante des Albumins als Säure, k_b die als Base. Dividieren wir diese beiden Gleichungen durcheinander, so ist:

$$\frac{k_a}{k_b} = \frac{[H^+]}{[OH^-]} \cdot \frac{[Alb^-]}{[Alb^+]}$$

Da nun bei isoelektrischer Reaktion $[Alb^-] = [Alb^+]$ ist, so ist bei isoelektrischer Reaktion

$$\frac{k_a}{k_b} = \frac{[H^+]}{[OH^-]}$$

[1]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 17, 231, 1909.

Die rechte Seite der Gleichung ist die „Acidität“ der Flüssigkeit, der reziproke Wert des als „Alkalinität“ definierten Wertes[1]). Da die Acidität aus dem Versuch bekannt ist, so ist auch $\frac{k_a}{k_b}$ bekannt.

Dieser Bruch heiße die „relative Acidität“. Sein Wert für einige bekannte amphotere Elektrolyte ist, wie man ihn aus den vorhandenen Messungen[2]) leicht berechnen kann, in

I.		II.	
Glycin	$6{,}7 \cdot 10^1$	Malz-Amylase	10^0
α-Alanin	$3{,}7 \cdot 10^1$	Serumalbumin	10^2—10^3
Leucylglycin	$5{,}0 \cdot 10^2$	Trypsin	10^5—10^8?
Tyrosin	$1{,}3 \cdot 10^3$	Pepsin	10^{10}
Glycylglycin	$9{,}0 \cdot 10^4$	Hefe-Invertase	sehr groß; amphotere Natur bisher nicht erwiesen
Asparaginsäure	$1{,}25 \cdot 10^8$		

Kolumne I angegeben. In Kolumne II ist derselbe Wert in erster, zunächst natürlich ganz roher Annäherung für die von mir untersuchten Fermente und das Albumin berechnet[3]).

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, diese Zeitschr. 18, 317; Fußnote S. 326, 1909.

[2]) Der Tabelle von Lundén, Amphot. Elektrolytes, Journ. of Biol. Chem. 4, 287, 1908 entnommen.

[3]) Nach völligem Abschluß dieser Arbeit erschien die interessante Mitteilung von Pauli (diese Zeitschr. 18, 340, 1909), in der er die anodische Wanderung von neutralem Eiweiß ebenfalls konstatierte.

Über katalysierende Emulsinbestandteile.

Von

L. Rosenthaler.

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 8. Juni 1909.)

In Fortführung meiner Untersuchungen über das Emulsin[1]) habe ich zunächst die Natur der Substanz zu erforschen versucht, welche die Addition der Blausäure an Aldehyde und Ketone beschleunigt. Daß diese Substanz nicht mit dem die optische Aktivität hervorrufenden Bestandteil identisch sein mußte, war mit einiger Wahrscheinlichkeit bereits aus Tatsachen zu schließen, die ich in meiner letzten Abhandlung über „durch Enzyme bewirkte asymmetrische Synthesen" mitgeteilt hatte, nämlich daraus, daß auch solche Additionen beschleunigt werden, die nicht zu optisch-aktiven Nitrilen führen. Der Beweis dafür, daß im Emulsin eine mit dem σ-Anteil nicht identische katalisierende Substanz vorkommt, läßt sich, wie ich zunächst festgestellt habe, leicht durch Erhitzen der wässerigen Emulsinlösung führen. Denn die katalytische Wirkung bleibt dadurch zum größten Teil erhalten, während, wie ich schon früher mitgeteilt habe, die die asymmetrische Synthese verursachende Substanz durch einstündiges Erhitzen auf 80° ihre Wirkung völlig einbüßt. Die katalysierende Wirkung der Emulsinlösung verschwindet auch bei längerem Erhitzen auf freiem Feuer nicht. Die katalysierende Substanz konnte demnach mindestens nicht ausschließlich enzymatisch sein, und es schien damit die Möglichkeit nahegerückt, die chemische Beschaffenheit des nichtenzymatischen Katalysators zu ermitteln. Zu diesem Zwecke

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **14**, 238, 1908; **17**, 257, 1909.

ging ich folgendermaßen vor: Eine wässerige Emulsinlösung wurde zur Abscheidung der Albuminsubstanzen zuerst auf dem Dampfbad uud dann auf freiem Feuer erhitzt. Das Filtrat wurde mit Bleiacetat gefällt. Als die vom Bleiniederschlag abfiltrierte Flüssigkeit nach Entbleiung durch H_2S und Vertreiben der Essigsäure auf ihre katalysierende Wirkung geprüft wurde, zeigte es sich, daß sie noch ebenso stark katalysierte als das Ausgangsmaterial nach dem Erhitzen. Katalysierende Substanz befand sich also im Filtrat der Bleifällung. Dieses gab Niederschläge mit Jodjodkalium, Gerbsäure, Pikrinsäure u. dgl. und verhielt sich positiv bei der Biuretreaktion, der Vanillin-Salzsäurereaktion u. a. Reaktionen auf Eiweiß und Verwandte. Die Flüssigkeit enthielt also noch Abbauprodukte von Eiweißkörpern. Um festzustellen, ob diesen vielleicht die katalysierende Wirkung zukomme, suchte ich sie von den übrigen noch vorhandenen Körpern abzutrennen, wozu ich im Mercuriacetat ein geeignetes Fällungsmittel fand. Auch bei dieser Fällung ging katalytisch wirkende Substanz ins Filtrat über; die katalytische Wirkung hatte somit auch mit den albuminoiden Substanzen nichts zu tun.

Das von der Fällung mit Merkuriacetat resultierende Filtrat enthielt nach der Abscheidung des Quecksilbers außer anorganischen Substanzen noch Kohlenhydrate. Da es von vornherein nicht ausgeschlossen war, daß solchen Körpern die katalysierende Wirkung zukam, so zog ich einige Kohlenhydrate zu den Additionsversuchen heran. In sämtlichen Fällen mit unzweifelhaft negativem Erfolg.

Als ich das letzte Filtrat auf Kohlenhydrate prüfte, hatte ich indes beobachtet, daß es mit Fehlingscher Lösung einen flockigen (nur wenig Kupferoxydul enthaltenden) Niederschlag gab, der auch mit Natronlauge allein und mit Ammoniak erhalten werden konnte. Die nähere Untersuchung zeigte, daß er aus Magnesiumhydroxyd bestand. In Essigsäure gelöst, beschleunigt er in geringem Maße die Benzaldehyd-Blausäure-Reaktion. Versuche, die ich darauf mit je 0,05 g Magnesiumacetat und -carbonat ausführte, zeigten dieselbe Wirkung in starkem Maße. Magnesiumsulfat beschleunigt nicht.

Die zu diesen und den folgenden Versuchen verwendete Flüssigkeit enthielt jeweils 0,135 g Blausäure, 0,53 g Benzaldehyd

und 30 ccm Weingeist auf 100 ccm. Eine derartig zusammengesetzte Flüssigkeit ist homogen. Ein Schütteln der Flüssigkeit, wie es bei meinen früheren Versuchen notwendig war, wird dadurch selbstverständlich überflüssig. Nach einstündigem Erwärmen der Flüssigkeit auf 25° wurde die freie Blausäure, wie früher, nach Volhard bei 15° titriert.[1])

Außer Magnesium waren von anorganischen Bestandteilen in dem letzten Filtrate auch noch Verbindungen des Calciums und Kaliums vorhanden. Deshalb wurden noch die Acetate des Calciums und Kaliums sowie Kaliumhydroxyd auf ihre beschleunigende Wirkung untersucht. Die beiden ersten beschleunigen stark, Kaliumhydroxyd[2]) beschleunigt ebenfalls, wenigstens, wie vorauszusehen, bei nicht allzu starker Konzentration. Schwefelsäure wirkt verzögernd. Über einige Versuche gibt die folgende Tabelle Auskunft.

Versuchsbedingungen: 1 Stunde bei 25°.

Zusammensetzung	frei	Blausäure gebunden	
		absolut	%
0,135 g HCN, 0,53 g C_6H_5CHO, 30 ccm Weingeist auf 100 ccm . . . , .	0,0632	0,0718	53,18
Dasselbe + 0,0554 $Mg(C_2H_3O_2)_2 + 4 H_2O$	0,0200	0,1150	85,19
„ + 0,0254 $KC_2H_3O_2$	0,0416	0,0934	69,19
„ einschl. 0,2 ccm $^n/_1$-KOH . .	0,0173	0,1177	87,18
„ „ 5 „ $^n/_1$-KOH . .	0,0464	0,0886	65,63
„ „ 10 „ $^n/_1$-KOH . .	0,0548	0,0802	59,41
„ „ 10 „ $^n/_1$-H_2SO_4 . .	0,0680	0,0670	49,63

Aus diesen Bestimmungen ist folgendes zu entnehmen: Da der Zusatz von Säure, welche die Dissoziation der Blausäure zurückdrängt, die Reaktion verzögert, so erfolgt die Addition der Blausäure nicht in Form ihrer undissoziierten Verbindung, sondern als Ionen, ein Schluß, den schon früher Lapworth (l. c.) aus seinen in anderer Weise angestellten Ver-

[1]) Wenn Lapworth (Journ. of the Chemical Society 83, 995, 1903) die Ansicht äußert, man könne die freie Blausäure wegen eintretenden Zerfalls des Nitrils nicht mit Silbernitrat titrieren, so trifft das auf das von mir verwendete Reaktionsgemisch nicht zu: Man erhält nämlich genau dasselbe Resultat, gleichgültig, ob man nach dem Zusatz das Silbernitrat sofort oder erst nach $^1/_2$ Stunde abfiltriert.

[2]) Bei den Versuchen mit Kaliumhydroxyd wurde vor dem Zusatz des Silbernitrats Salpetersäure hinzugefügt.

suchen gezogen hat.[1]) Es werden also alle Körper die Addition der Blausäure beschleunigen, welche eine Vermehrung der CN-Ionen-Konzentration herbeiführen, ohne die Konzentration der zur Reaktion unbedingt notwendigen H-Ionen allzusehr herabzudrücken. Dazu sind Verbindungen der Alkalien und Erdalkalien mit schwachen Säuren und kaustische Alkalien in geringer Konzentration geeignet. Während der Reaktion werden dann die infolge der Addition verschwundenen CN-Ionen durch die noch vorhandene nichtdissoziierte Blausäure nachgeliefert. Aus all dem darf für die durch Emulsin erfolgende Beschleunigung der Blausäure-Addition folgendes geschlossen werden: Sie erfolgt zum überwiegenden Teil durch Verbindungen des Magnesiums, Calciums und Kaliums, die als „Cyanionen-Bildner" zu wirken imstande sind. Für diese Anschauung liefern außer den oben angeführten Tatsachen folgende Versuche den direkten Beweis: Ein auf oben geschilderte Weise durch Fällung einer Emulsinlösung mit Blei- und Mercuriacetat erhaltenes, von den Metallen und der Essigsäure befreites Filtrat wurde in drei gleiche Teile geteilt. Teil I wurde unverändert gelassen. Teil II wurde mit Bariumhydroxyd vom Magnesium befreit, das Barium wieder mit Schwefelsäure

[1]) Unter den Möglichkeiten, die für den eigentlichen Mechanismus der Reaktion in Betracht kommen, bevorzugt Lapworth die, daß das CN-Ion zunächst mit der Carbonylgruppe zusammentritt und daß dann erst in einem zweiten Stadium die H-Ionen sich mit diesem Komplex vereinigen. Nach Bredig (Altes und Neues von der Katalyse, Vortrag 1907, S. 18) tritt indessen, wenigstens bei der Benzoinbildung, das Cyanion mit dem Benzaldehyd unmeßbar schnell zusammen, während es doch bei den oben mitgeteilten Versuchen mit wohl meßbarer Geschwindigkeit addiert wird. Beides zusammengenommen spricht gegen die Anschauung von Lapworth. Ein anderer Verlauf der Reaktion erscheint mir deshalb wahrscheinlicher: Es wird immer ein Nitrilmolekül sich bilden, wenn ein H- und ein CN-Ion gleichzeitig in die Attraktionssphäre eines Benzaldehyd-Moleküls geraten. Dieser Moment wird um so öfter eintreten, je mehr CN-Ionen vorhanden sind, dabei dürfen, wie es beim Zusatz von KOH eintreten muß, gleichzeitig H-Ionen bis zu einem bestimmten Grad aus der Flüssigkeit verschwinden, ohne daß die Beschleunigung aufgehoben wird; die dann geringere Konzentration der $H^{\cdot}$-Ionen fällt nicht ins Gewicht, weil ihre Geschwindigkeit beträchtlich größer als die der CN-Ionen sein muß. Das eingehende Studium der Reaktionskinetik wird wohl darüber Aufschluß geben, welche von beiden Anschauungen die richtige ist.

(unter Beseitigung eines Überschusses) entfernt. Teil III wurde ebenso behandelt, doch wurde außerdem nach dem Zusatz der Schwefelsäure noch Weingeist zugefügt, um das Calcium vollständig zu fällen. Aus dem Filtrat wurde der Weingeist durch Abdampfen vertrieben. Alle die Flüssigkeiten wurden dann in der oben angegebenen Weise mit Benzaldehyd und Blausäure zusammengebracht. Über das Ergebnis unterrichtet nachstehende kleine Tabelle:

	Blausäure frei	Blausäure gebunden absolut	Blausäure gebunden %
Teil I (unverändert)	0,020	0,1150	85,19
Teil II (frei von Mg)	0,0259	0.1091	80,81
Teil III (frei von Mg und Ca)	0,0475	0,0875	64,813

Wird gar kein Zusatz gemacht, so wird in derselben Zeit 53,18 % Blausäure gebunden. Die Anwesenheit von Calcium, Magnesium und Kalium bewirkt also, daß 32 % Blausäure mehr gebunden wird; durch die Entfernung des Magnesiums sinkt dieser Betrag auf 27,63 %, durch die des Calciums auf 11,63 und dieser Rest darf unbedenklich auf Rechnung des Kaliums, d. h. auf die durch dasselbe hervorgerufenen CN-Ionen gesetzt werden. In welcher Weise diese Metalle im Emulsin gebunden sind, bleibt dabei noch offen. Sie müssen jedenfalls, dafür spricht die Fähigkeit der vorhandenen Verbindungen zur Bildung von Cyan-ionen, an Substanzen von schwach sauerem Charakter gebunden sein. Es ist denkbar, daß letztere mit den die optische Aktivität hervorrufenden identisch sind. Ein direkter Zusammenhang der anorganischen „Cyanionen-Bildner“ mit der durch Emulsin hervorgerufenen asymmetrischen Synthese besteht indes nicht. Der Zusatz von Magnesiumacetat bewirkt, wie im voraus angenommen werden durfte, keine optische Aktivität des Nitrils.

Jedenfalls komplizieren die in dieser Mitteilung nachgewiesenen katalytisch wirkenden Bestandteile des Emulsins alle Vorgänge, seien sie synthetischer oder hydrolytischer Natur, bei denen Blausäure und Aldehyde oder Ketone mit Emulsin zusammentreffen. Es soll deshalb zunächst versucht werden, ein von jenen Bestandteilen freies Emulsin zu gewinnen.

Über das Spiel der Enzyme im Hefepreßsaft.

Von

Eduard Buchner und Hugo Haehn.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. Juni 1909.)

Frischer Hefepreßsaft verliert beim Lagern bald seine Gärwirkung auf Zucker, eine Erscheinung, welche der eine von uns auf den Einfluß eines proteolytischen Enzymes, der Endotryptase, zurückgeführt hat[1]), deren Anwesenheit im Preßsaft kurz vorher von M. Hahn[2]) nachgewiesen worden war. Der Annahme, daß von zwei in derselben Zelle entstehenden Enzymen das eine das andere vernichten soll, ist anfangs nicht allgemein zugestimmt worden[3]). Inzwischen hat jedoch mit der näheren Erforschung der zellfreien Gärung und der mannigfachen dabei beteiligten Agenzien die Vorstellung vom Spiel der Enzyme im Hefepreßsaft immer breiteren Boden gewonnen. Lassen wir den Ab- und Aufbau[4]) von Di- und Polysacchariden, wie er im Preßsaft vor sich geht, außer Betracht und sehen auch davon ab, daß bei der eigentlichen Spaltung des Traubenzuckers vielleicht verschiedene Enzyme des Preßsaftes wirksam sind[5]), welche in dieser Abhandlung unter dem Namen Zymase zusammengefaßt werden sollen, so haben doch außerdem die

---

[1]) Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, 1111, 1897.

[2]) Vgl. ebenda 31, 200, 1898.

[3]) Vgl. R. Neumeister, ebenda, 30, 2965, 2966, 1897.

[4]) Vgl. die Zusammenstellung von J. Meisenheimer, Biochem. Centralbl. 6, 5, 1907; ferner Buchner und Klatte, diese Zeitschr. 9, 418, 1908.

[5]) Buchner und Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 423, 1904; 38, 621, 1905.

Untersuchungen von A. Harden und W. Young[1]) den Beweis geliefert, daß für den Gärungsvorgang neben der Zymase die Anwesenheit eines zweiten Stoffes, des sog. Ko-Enzyms, notwendig ist. Diese Forscher zeigten, daß man Preßsaft durch ein feinporiges Martin-Gelatinefilter in zwei Teile zerlegen kann: einen „inaktiven Rückstand" und ein ebenso unwirksames Filtrat, die aber, vereint, Zucker wieder vergären. An Stelle des Filtrates kann man sich, um inaktiven Rückstand von neuem wirksam zu machen, nach denselben Autoren auch des „Kochsaftes" bedienen, wie er durch Erhitzen von frischem Hefepreßsaft oder Aufkochen von Hefe zu erhalten und selbst ohne Wirkung auf Zucker ist. Gemeinsam mit W. Antoni[2]) hat dann der eine von uns nachgewiesen, daß sich ähnliches, wie durch das Gelatinefilter auch durch einfaches Dialysieren mittels Pergamentpapier erreichen läßt. Außer der Zymase ist somit für den Gärungsvorgang die Gegenwart eines kochfesten und dialysablen Stoffes, des Ko-Enzyms, unentbehrlich. Buchner und F. Klatte[3]) haben ferner festgestellt, daß man ebenso, wie inaktiven Rückstand, auch Preßsaft, der während 3 Tagen seine Gärwirkung auf Zucker ausgeübt hat und dabei schließlich unwirksam geworden ist, sog. „ausgegorenen" Preßsaft. durch Kochsaftzusatz wieder zur Zuckervergärung fähig machen, „regenerieren" kann. Über die Natur des Ko-Enzyms ergab sich aus den Arbeiten der englischen Gelehrten, daß es sich wahrscheinlich um eine durch Magnesiamischung nicht fällbare Phosphorsäureverbindung handelt[4]), und zwar, da nach Buchner und Antoni[5]) Glühen des eingedampften Kochsaftes oder vierstündiges Erhitzen auf 130°, sowie eine Behandlung mit Ricinuslipasen die Wirkung vernichtet, während Lecithin in mancher Richtung dem Kochsaft ähnliche Dienste leistet, voraussichtlich um einen organischen Phosphorsäureester.

---

[1]) Angaben über die Literaturstellen siehe diese Zeitschr. 8, 520, 522, 1908.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 141, 1905.

[3]) Diese Zeitschr. 8, 523, 1908.

[4]) Die große Bedeutung der Phosphorsäure für den Gärungsvorgang ergibt sich auch aus Erfahrungen im praktischen Brauereibetriebe in England; vgl. F. Lafar, Handbuch der techn. Mykologie 4, 87, 1907.

[5]) a. a. O., S. 139.

Diese Ergebnisse werden nun durch die folgenden Versuche, welche sich auch wieder auf die Eigenschaften und die Wechselwirkungen zwischen Preßsaft und Kochsaft beziehen, bestätigt und in mancher Richtung erweitert.

Die Regenerierbarkeit des ausgegorenen Preßsaftes durch Zufügen von Kochsaft ist, wie schon Buchner und F. Duchaček[1]) wahrscheinlich gemacht haben, keine dauernde. Zögert man nämlich mit dem Zusatz zu lange, so kann derselbe manchmal ergebnislos bleiben. In einer größeren Anzahl von Fällen (siehe Tabelle I) zeigten die untersuchten Preßsäfte, nachdem sie bei 22° ihre Gärwirkung auf Zucker ausgeübt hatten und dabei schließlich unwirksam geworden waren, auf Zusatz von Kochsaft und Zucker nach 3 Tage dauernder Gärung stets von neuem erhebliche Gasentwicklung; bei Zusatz erst nach 4 Tagen war dieselbe aber immer geringer und in mehreren Fällen fast auf Null heruntergesunken. Diese letzterwähnten Unterschiede deuten auf eine Verschiedenheit der Preßsäfte hin, von welchen die einen im Verhältnis zur Zymase mehr Ko-Enzym enthalten dürften als die anderen. Die Regenerierbarkeit des ausgegorenen Preßsaftes ist wohl darauf zurückzuführen, daß während des Gärungsvorganges die Zymase erhalten bleibt[2]), das Ko-Enzym aber allmählich verschwindet; da für den Gärungsvorgang beide Enzyme notwendig sind, wird der Preßsaft dadurch unwirksam, aber durch Zufügen von Kochsaft, d. h. von Ko-Enzym, wieder regeneriert. Das Ko-Enzym scheint die Zymase vor der Zerstörung durch die Endotryptase zu schützen (Beweise dafür siehe weiter unten); ist relativ mehr Ko-Enzym vorhanden, so bleibt die Zymase und damit die Regenerierbarkeit länger erhalten.

Hängt nun das Verschwinden des Ko-Enzyms und die Konservierung der Zymase im gärenden Preßsaft mit dem Gärungsvorgange als solchem zusammen, oder verhält sich Preßsaft, der ohne Zuckerzusatz bei 22° aufbewahrt wird, ähnlich? In der Tat zeigte sich, daß letzterer, durch Lagern unwirksam

[1]) Diese Zeitschr. 15, 228, 1909.

[2]) Jedenfalls ein gewisser Teilbetrag; daß nicht mehr alle Zymase unverändert vorhanden ist, ergibt sich daraus, daß auch größere Zusätze von Kochsaft keine vollständige Regenerierung bis zur ursprünglichen Wirkung herbeiführen.

geworden, ebenso gut regeneriert werden kann wie ausgegorener Preßsaft (s. Tabelle II). Allerdings muß der Zusatz des Kochsaftes hier viel früher als dort vorgenommen werden, wenn er von Erfolg begleitet sein soll, d. h. die Vorgänge, welche zur Zerstörung der Gärkraft führen, spielen sich bei Zuckerabwesenheit rascher ab. Von Buchner und Klatte[1]) früher in gleicher Richtung angestellte Versuche, bei welchen Preßsaft ohne Zuckerzusatz 3 Tage stehen gelassen wurde und dann einen Zusatz von Kochsaft erhielt, sind nur deshalb negativ verlaufen, weil mit dem Zusatz zu lange gewartet worden war.

Aus diesen Versuchen läßt sich somit der Schluß ziehen, daß die in den ersten Tagen eintretende Vernichtung der Gärungsenzyme des Hefepreßsaftes mit dem Gärungsvorgang selbst nichts zu tun hat. Hierin liegt eine Annäherung an die Theorie der Enzymwirkungen, welche verlangt, daß jene Stoffe, indem sie wirken, unverändert bleiben. Die Zerstörung der Zymase spielt sich ebenso ab, auch wenn kein Zucker zugesetzt wird; nur das Tempo ist bei Abwesenheit von Zucker ein rascheres, wie denn überhaupt enzymatische Vorgänge in hochkonzentrierten Zuckerlösungen langsamer verlaufen[2]). Da ähnliches, wie sogleich gezeigt werden wird, für starke Glycerinzusätze gilt, kann es sich auch im Falle des Zuckers kaum um irgend eine schützende Verbindung zwischen Ko-Enzym und Kohlenhydrat handeln.

Welche Vorgänge beim Lagern des Preßsaftes ohne Zuckerzusatz zum Verschwinden der Gärwirkung führen, ob tatsächlich dabei wieder zuerst das Ko-Enzym verschwindet, haben wir durch Zusatz von sekundärem Natriumphosphat, Kaliumcarbonat und Glycerin weiter zu klären versucht (s. Tabellen III bis VII). Insbesondere bewahrt ein Zusatz der letztgenannten Substanz die Gärkraft des lagernden Preßsaftes 1 bis 2 Tage lang in hohem Grade, die dann durch Kochsaftzusatz noch weiter gesteigert werden kann. Es stimmt dies mit den alten Erfahrungen Wittichs und Hüfners über die Vorzüglichkeit des Glycerins als konservierendes Mittel für Enzyme überein; wahrscheinlich ist neben dem relativen Mangel an hydrolytische Vorgänge begünstigendem Wasser die eintretende hohe

[1]) Diese Zeitschr. 8, 526, 542, Tab. VIII, 1908.

[2]) Vgl. z. B. Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, 1111, 1897.

Viskosität der Flüssigkeit der Hauptgrund für die Verzögerung der Enzymwirkungen.

Der Zusatz von Dinatriumphosphat wirkt bei Mengen von 5% sehr günstig auf die Erhaltung der Gärwirkung und der Regenerierbarkeit ein. Offenbar wird sowohl die Zymase durch die schwach alkalische Reaktion vor allzu schneller Verdauung durch die Endotryptase, welche nach M. Hahn in saurer Lösung rascher arbeitet[1]), bewahrt, als auch die Zerlegung des Ko-Enzyms, voraussichtlich durch den Phosphorsäuregehalt des Zusatzes eingedämmt. Kaliumcarbonat als stärker alkalisch wirkende Substanz schützt (in Mengen von 2,5%) zwar auch die Zymase, so daß die Regenerierbarkeit der damit gelagerten Preßsäfte immer eine ausgezeichnete ist, zerstört aber wohl infolge seiner Alkaliwirkung das Ko-Enzym, infolgedessen der gelagerte Saft für sich häufig keine Gärwirkung mehr besitzt. Direkte experimentelle Beweise für den schädlichen Einfluß von Potasche auf das Ko-Enzym sind weiter unten mitgeteilt. Es wird jetzt auch die frühere Beobachtung[2]) verständlich, daß geringe Kaliumcarbonatzusätze (0,6%) in gärendem Preßsaft eine außerordentlich rasche Angärung während des ersten Tages zur Folge haben, wogegen die Gesamtgärleistung nach 3 Tagen keine höhere ist als ohne jenen Zusatz. Die fördernde Wirkung auf die Zymase wird eben durch den ungünstigen Einfluß auf das Ko-Enzym bald verdeckt.

Frühere Versuche von Buchner und Klatte[3]) hatten die merkwürdige Tatsache ergeben, daß ausgegorener Preßsaft durch häufig wiederholte Zusätze von Kochsaft und Zucker 2 bis 3 Wochen lang gärkräftig erhalten werden kann. Man muß daraus schließen, daß eine Konservierung der Zymase gegenüber den vernichtenden Einflüssen der Verdauungsenzyme gelingt, indem für dauernde Anwesenheit von Ko-Enzym gesorgt wird. Um diesem schützenden Einfluß der letzterwähnten Substanz auf die Zymase weiter nachzuspüren, haben wir Hefepreßsaft unter mehrmals wiederholtem Zusatz von Kochsaft, aber ohne Zucker, lagern gelassen und hernach Gärwirkung und

[1]) Zeitschr. f. Biol. 40, 147, 1900. — E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 319.

[2]) E. u. H. Buchner u. M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 143.

[3]) Diese Zeitschr. 8, 535, 1908.

Regenerierbarkeit geprüft. Der erwartete Erfolg blieb tatsächlich nicht aus; der Preßsaft konnte so einen, zwei und sogar vier Tage bei sehr starker Gärkraft erhalten werden, die sich auf Kochsaftzusatz noch weiter steigern oder „aktivieren“ ließ (s. Tabellen Xa und b).

Somit schützt das Ko-Enzym die Zymase vor der verderblichen Wirkung des proteolytischen Enzyms. Man wird sich am einfachsten vorzustellen haben, daß eine Bindung zwischen Ko-Enzym und Zymase eintritt[1]), welche letztere bewahrt. Diese Bindung muß aber eine lockere, nur bei Gegenwart von überschüssigem Ko-Enzym beständige sein. Dadurch erklärt sich, daß der inaktive Rückstand beim Filtrieren durch ein Gelatinefilter und bei der Dialyse zwar jene hypothetische Verbindung enthält, aber doch keine gute Gärwirkung aufweist, weil das überschüssige Ko-Enzym fehlt.

Harden und Young haben gezeigt, daß in einem Gemisch von inaktivem Rückstand, Kochsaft und Zucker zuerst, vor der Zymase, das Ko-Enzym verschwindet. Ähnliches konnten Buchner und Klatte für die Gärwirkung ausübenden Hefepreßsaft feststellen. Dasselbe ergibt sich aus dem oben Mitgeteilten auch für ohne Zuckerzusatz lagernden Preßsaft.

Welche Agenzien sind für die Zerstörung des Ko-Enzyms verantwortlich zu machen? Nach Versuchen von Buchner und Klatte wird Kochsaft zwar durch 3 tägiges Stehen mit altem, durch Lagern seiner Gärkraft beraubtem Preßsaft unfähig gemacht, ausgegorenen Preßsaft zu regenerieren[2]), meist aber nicht durch eine mehrtägige Behandlung mit Tryptase[3]); dagegen hat sich eine sehr verderbliche Wirkung einer Lipaseemulsion aus Ricinussamen ergeben[4]). Demnach scheinen es weniger proteolytische, als vielmehr lipolytische Enzyme des Preßsaftes zu sein, die das Ko-Enzym zerstören, und andere Stoffe, als jene, welche die Zymase vernichten, was auf eine vollständig verschiedene chemische Natur des Ko-Enzyms und der Zymase hindeutet. Diese Ergeb-

---

[1]) Zu der gleichen Annahme führen auf anderem Wege einige noch nicht veröffentlichte Versuche von Buchner u. G. H. A. Clowes.

[2]) Diese Zeitschr. 8, 545, 1908.

[3]) Ebenda S. 544.

[4]) Ebenda S. 549.

nisse haben sich bei neuen Versuchen über die Einwirkung von Ricinuslipasen auf Kochsaft bestätigt (s. Tabelle XI). **Es hat sich ferner herausgestellt, daß Kochsaft durch 3 tägiges Lagern mit 2,5 % Kaliumcarbonat bei 35° seine regenerierende Wirkung auf ausgegorenen Preßsaft einbüßt** (s. Tabelle XII) und daß bereits mehrmals wiederholtes Aufkochen des Kochsaftes eine deutliche Schädigung herbeiführt (s. Tabelle XIII). Alle diese Ermittelungen stimmen mit der Auffassung des Ko-Enzymes als eines leicht verseifbaren organischen Phosphorsäureesters gut überein. Da es ohne Schwierigkeiten gelingt, die wirksamen Stoffe des Kochsaftes durch Alkohol zu fällen, soll auf diesem Wege versucht werden, einen derartigen Körper zu isolieren.

Die außerordentliche Empfindlichkeit des Kochsaftes und somit des Ko-Enzymes gegenüber Potasche erinnert an die bedeutende Beeinflussung der meisten Enzymwirkungen durch die Reaktion der Flüssigkeit. Durch diese Beobachtung wird auch Hoffnung erweckt, daß es noch gelingen kann, die früher beschriebene, oft rätselhaft hemmende Wirkung von alkalisch reagierenden Kaliumarsenitlösungen auf die zellfreie Gärung[1]) zu erklären.

Es ist uns Bedürfnis, dankbar der zahlreichen Lieferungen sehr geeigneter untergäriger Hefe zu gedenken, mit welchen uns die Schultheiß-Brauerei, A.-G., Berlin, unterstützt hat.

Experimentelles.

Die **Gärkraftbestimmungen** wurden in der früher schon beschriebenen Weise[2]) auf gewichtsanalytischem Wege ausgeführt. Als Versuchstemperatur diente immer 22°, als Antiseptikum kam Toluol zur Anwendung, von welchem, um auch bei längerer Versuchsdauer das Wachstum von Mikroorganismen auszuschließen, auf 20 ccm Saft bei allen Zusätzen immer wieder von neuem 0,2 ccm zugefügt wurden. Um die mit dem physiologischen Zustand der jeweils frisch aus der Brauerei bezogenen Unterhefe zusammenhängenden Verschiedenheiten der einzelnen

[1]) Buchner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 1089, 1091, 1898; **32**, 2092, 1899. — E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung 1903, S. 184.

[2]) Diese Zeitschr. **8**, 533, 1908; **15**, 229, 1909.

Preßsäfte möglichst auszuschalten, haben wir angestrebt, die Versuche sowohl mit Preßsaft von sehr guter Gärkraft (auf Zusatz von 8 g Rohrzucker entwickeln 20 ccm innerhalb 4 Tagen über 1,5 g Kohlendioxyd), als auch mit Preßsaft von geringerer Wirkung (liefert unter denselben Umständen etwa 1 g Kohlendioxyd) durchzuführen. Das Datum ermöglicht zu erkennen, bei welchen Versuchen der verschiedenen Tabellen der gleiche Preßsaft zur Anwendung kam.

Die normale Darstellung des Kochsaftes war folgende: 2,5 kg abgepreßte Hefe werden in einer Porzellanschale $^3/_4$ Stunden lang auf dem Dampfbade erhitzt. Die dünnflüssig gewordene und wieder erkaltete Masse wird hierauf mit Kieselgur versetzt, bis die Feuchtigkeit aufgesaugt und das Ganze krümelig geworden ist. Mit Hilfe der hydraulischen Presse erhält man dann innerhalb $1^1/_2$ Stunden 820 ccm Saft. Derselbe wird nun im Glaskolben auf dem Drahtnetze $^1/_2$ Stunde erhitzt, bis Aufkochen und Schäumen eintritt. Der klar aus der Presse gekommene Saft scheidet dabei einen Niederschlag ab, welcher sich jedoch beim Erkalten etwa zur Hälfte wieder auflöst. Von der bleibenden Fällung wird nach dem Abkühlen abfiltriert. Um den so gewonnenen Kochsaft längere Zeit aufbewahren zu können, setzt man Toluol zu, da das früher geübte wiederholte Aufkochen sich, wie unten noch erörtert wird (s. Tabelle XIII), als schädlich erwies. Die angewandten Kochsäfte wurden stets auf ihre Wirksamkeit geprüft.

Erwähnt sei schließlich noch, daß in der Regel zwei Parallelversuche angesetzt wurden, welche sich gegenseitig kontrollieren.

Dauer der Regenerierbarkeit ausgegorener Preßsäfte.

In Tabelle I sind eine Anzahl von Beispielen zusammengestellt, welche beweisen, daß ausgegorener Preßsaft nur dann durch Kochsaftzusatz regeneriert werden kann, wenn damit nicht zu lange gezögert wird. Alle die ausgegorenen Preßsäfte der 5 Versuchsreihen zeigten nach 3 Tagen auf Zusatz von Kochsaft und Zucker erhebliche Gasentwicklung, ließen sich also deutlich regenerieren. Nach 4 Tagen aber war die Fähigkeit dazu entweder fast verschwunden (Versuche Nr. 14, 15, 18 u. 19) oder doch beträchtlich herabgesetzt, so daß bei noch längerem Lagern ein gänzliches Verschwinden in Aussicht gestanden hätte.

Tabelle I.
Regenerierung von ausgegorenem Preßsaft durch Kochsaft nach 3, 4 und 5 Tagen.

Nummer	Datum	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol gaben Kohlendioxyd in g nach Tagen				Zusatz: 20 ccm Kochsaft + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol	Regenerationswirkung: Kohlendioxyd in g nach Tagen				
		1	2	3	4		1	2	3	4	5
1	3. 10.	—	1,56	1,63	—	nach 3 Tagen	0,19	0,29	0,32	0,34	—
2	„	—	1,56	1,62	—	„ 3 „	0,20	0,29	0,32	0,33	—
3	„	—	1,43	1,53	1,55[1]	„ 4 „	0,15	0,20	0,22	0,25	—
4	„	—	1,48	1,57	1,60[1]	„ 4 „	0,15	0,20	0,22	0,24	—
5	27. 10.	—	—	1,52	—	„ 3 „	0,18	0,33	0,39	0,41	0,42
6	„	—	—	1,50	—	„ 3 „	0,18	0,32	0,38	0,40	0,40
7	„	1,15	1,41	1,46	1,47	„ 4 „	0,13	0,23	0,27	0,28	—
8	11. 11.	—	—	1,65	—	„ 3 „	0,25	0,37	0,44	—	0,49
9	„	—	—	1,67	—	„ 3 „	0,24	0,36	0,43	—	0,47
10	„	—	—	1,70	1,70	„ 4 „	0,14	0,24	—	0,31	0,33
11	„	—	—	1,71	1,71	„ 4 „	0,16	0,26	—	0,35	0,36
12	22. 11.	—	—	0,85	—	„ 3 „	0,11	0,17	—	0,25	0,26
13	„	—	—	0,85	—	„ 3 „	0,11	0,20	—	0,26	0,26
14	„	0,76	0,83	0,85	0,85	„ 4 „	0,01	0,01	—	—	—
15	„	0,70	0,80	0,82	0,83	„ 4 „	0,00	0,00	—	—	—
16	15. 12.	—	—	1,17	—	„ 3 „	0,11	0,28	0,39	0,49	0,56
17	„	—	—	1,21	—	„ 3 „	0,11	0,30	0,42	0,53	0,60
18	„	—	—	1,18	1,19	„ 4 „	0,01	0,02	0,02	0,03	—
19	„	—	—	1,22	1,23	„ 4 „	0,01	0,02	0,02	0,03	—
20	„	—	—	1,19	1,20	„ 5 „	0,01	0,01	0,01	—	—
21	„	—	—	1,20	1,21	„ 5 „	0,01	0,01	0,01	—	—

Verhalten des Preßsaftes beim Lagern.

In einer Reihe von Versuchen (s. Tabelle II) wurde Preßsaft ohne Zuckerzusatz bei 22° aufbewahrt und nach einigem Stehen durch Zugabe einerseits von Zucker, andererseits von Zucker und Kochsaft die Gärkraft bzw. die Regenerierbarkeit festgestellt. Während des Lagerns trat die bekannte Erscheinung der Selbstgärung, beruhend auf dem Glycogengehalt der Hefe, ein, deren Umfang durch Wägung verfolgt wurde, aber kein sehr erheblicher war. Es zeigte sich, wie nach früheren Er-

[1]) Dieser Preßsaft hatte vor Beginn des Versuches etwas länger gestanden, was die Abnahme der Gärkraft gegenüber den Versuchen 1 und 2 erklärt.

gebnissen zu erwarten, daß die Gärkraft beim Aufbewahren rasch abnimmt und allmählich verloren geht. Solche gelagerte Säfte kann man aber durch Kochsaftzusatz immer deutlich, in manchen Fällen sogar sehr stark regenerieren, so daß, auch wenn Zusatz von Zucker allein keine Gärwirkung mehr herbeiführt, Zusatz von Zucker und Kochsaft noch lebhafte Kohlendioxydentwicklung veranlaßt. Es genügt also der alleinige Zusatz von Kochsaft, d. h. von Ko-Enzym, um hier Gärwirkung zu erzielen, während offenbar die eigentliche Zymase noch in wirksamer Form erhalten ist. Im lagernden Preßsaft spielen sich also dieselben Vorgänge ab wie im mit Zucker versetzten, Gärwirkung ausübenden. Man kann gelagerten Preßsaft ebenso gut regenerieren wie ausgegorenen, nur muß bei ersterem der Kochsaftzusatz bedeutend früher, schon nach einem Tage, erfolgen, während letzterer noch nach 3 Tagen regenerierbar ist. Dieser Unterschied dürfte kaum auf eine Art von Schutzwirkung des Kohlenhydrats, beruhend etwa auf einer chemischen Bindung, welche den Gärungsvorgang begleitet, zurückzuführen sein, sondern erklärt sich völlig in der Weise, daß durch den starken Zuckerzusatz die Wirkung der Enzyme aufeinander im gärenden Preßsaft verlangsamt wird. Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei der Vernichtung der Gärkraft in beiden Fällen um die Tätigkeit verdauender bzw. verseifender Enzyme, welche zunächst zu einer Zerstörung des Ko-Enzyms führt und dann erst zur Vernichtung der Zymase. Der gelagerte, durch Kochsaft regenerierte Preßsaft bietet bei der Gärung insofern ein etwas anderes Bild wie der frische Hefepreßsaft, als bei der normalen zellfreien Gärung immer beträchtliche Ausscheidung von Eiweißgerinnsel auftritt, die bei Anwendung gelagerten Saftes wegen Selbsverdauung während des Lagerns ausbleibt.

Lagern von Preßsaft mit Natriumphosphat, Kaliumcarbonat oder Glycerin.

Sekundäres Natriumphosphat gleichzeitig mit Zucker zu frischem Preßsaft gesetzt, erhöht dessen Gärkraft. Diese aktivierende Wirkung veranlaßte uns zu prüfen, ob jenes Salz auch auf die Veränderungen des Preßsaftes beim Lagern von Einfluß sein würde. In der Tat hat sich herausgestellt (s. Tabelle III), daß ein Zusatz von 2,5 $^0/_0$ (0,5 g auf 20 ccm)

Tabelle II.

Regenerierung des ohne Zusatz gelagerten Preßsaftes.

Je 20 ccm gelagerter Preßsaft mit 8 g Rohrzucker bzw. 8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft.

Nummer	Datum	Selbstgärung in 24 Stunden	Zusatz nach 24 Stunden	Kohlendioxyd in g nach Tagen						
				1	2	3	4	5	6	7
1	13. 1.		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,83	1,13	1,20	1,20	—	—	—
2	„			0,84	1,13	1,20	1,20	—	—	—
3	„	0,08	8 g Rohrzucker	0,01	0,02	0,02	0,02	—	—	—
4	„	0,07		0,01	0,01	0,01	0,01	—	—	—
5	„	0,07	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,01	0,03	0,07	0,13	0,18	0,22	0,22
6	„	0,07		0,01	0,03	0,06	0,12	0,17	0,20	0,21
7	3. 2.		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	1,35	1,66	1,72	1,73	—	—	—
8	„			1,32	1,63	1,70	1,71	—	—	—
9	„	0,19	8 g Rohrzucker	0,15	0,31	0,37	0,38	—	—	—
10	„	0,20		0,15	0,32	0,38	0,38	—	—	—
11	„	0,20	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	0,21	0,36	0,53	0,62	0,65	0,67	0,68
12	„	0,19		0,22	0,37	0,59	0,67	0,69	0,70	0,71
13	25. 2.		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,66	0,95	—	1,10	1,11	1,11	—
14	„			0,54	0,87	—	1,05	1,06	1,08	—
15	„	0,11	8 g Rohrzucker	0,02	—	0,06	0,09	0,11	0,11	—
16	„	0,10		0,02	—	0,15	0,16	0,17	—	—
17	„	0,10	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft C	0,04	—	0,47	0,65	0,68	0,70	0,71
18	„	0,10		0,04	—	0,52	0,64	0,68	0,71	0,72
19	22. 4.		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,89	1,21	1,27	1,28	—	—	—
20	„			0,90	1,22	1,28	1,29	—	—	—
21	„	0,08	8 g Rohrzucker	0,02	—	0,03	0,03	—	—	—
22	„	0,08		0,02	—	0,02	0,02	—	—	—
23	„	0,08	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft D	0,02	—	0,06	0,13	0,16	0,18	—
24	„	0,08		0,02	—	0,06	0,12	0,14	0,16	—
25	4. 5.		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,86	1,13	1,18	1,18	—	—	—
26	„			0,84	1,12	1,17	1,18	—	—	—
27	„	0,22	8 g Rohrzucker	0,03	0,06	0,07	—	—	—	—
28	„	0,22		0,04	0,07	0,07	—	—	—	—
29	„	0,22	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft E	0,07	0,18	0,22	0,24	0,24	—	—
30	„	0,22		0,07	0,18	0,19	0,22	0,22	—	—

zwar die Gärkraft des Preßsaftes während eintägigen Lagerns nicht zu erhalten vermag (Nr. 14 und 15), wohl aber die Regenerierbarkeit, welche in einer Kohlendioxydentwicklung auf Kochsaftzusatz hin hervortritt (Nr. 16 und 17). 5 % Natriumphosphat erhalten aber auch die Gärkraft zum großen Teil (Nr. 4, 18 und 19), so daß hier Kochsaftzusatz nicht weiter regenerierend, sondern nur als Verdünnungsmittel und daher etwas schädigend einwirkt (Nr. 5, 20 und 21).

Tabelle III.

Regenerierung des mit Natriumphosphat gelagerten Preßsaftes.

Je 20 ccm gelagerter Preßsaft mit 8 g Rohrzucker bzw. 8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von $Na_2HPO_4 + 12H_2O$ (auf 20 ccm Preßsaft) g	Während des Lagerns: Selbstgärung nach 24 Std.	Nach 18 Std. (Nr. 3—5) bzw. 24 Std. (Nr. 8—21) dauerndem Lagern Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen: 1	2	3	4	5	12
1	15. 12.	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.		0,89	1,14	1,19	1,20	—	—
2	„	—			0,89	1,15	1,20	1,21	—	—
3	„	—	0,09	8 g Rohrzucker + 1 g Natriumphosphat	0,08	0,17	0,24	0,31	—	—
4	„	1,0	0,08	8 g Rohrzucker	0,17	0,45	0,56	0,61	—	—
5	„	1,0	0,07	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,18	0,33	0,43	0,49	—	—
6	6. 1.	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.		1,00	1,13	1,14	1,15	—	—
7	„	—			1,02	1,15	1,16	1,16	—	—
8	„	—	0,13	8 g Rohrzucker	0,01	0,02	0,05	0,05	—	—
9	„	—	0,13		0,02	0,02	0,02	0,03	—	—
10	„	—	0,13	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,01	0,02	0,05	0,07	0,08	—
11	„	—	0,13		0,01	0,03	0,07	0,08	0,08	—
12	„	—	0,13	8 g Rohrzucker + 1 g Natriumphosphat	0,04	0,06	0,08	0,08	—	—
13	„	—	0,13		0,04	0,06	0,08	0,08	—	—
14	„	0,5	0,13	8 g Rohrzucker	0,01	0,01	0,01	0,01	—	—
15	„	0,5	0,13		0,01	0,01	0,01	0,01	—	—
16	„	0,5	0,13	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,05	0,12	0,17	0,22	0,26	0,41
17	„	0,5	0,13		0,05	0,12	0,17	0,22	0,26	0,41
18	„	1,0	0,12	8 g Rohrzucker	0,11	0,37	0,47	0,51	0,51	—
19	„	1,0	0,12		0,10	0,36	0,40	0,51	0,52	—
20	„	1,0	0,12	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,14	0,21	0,25	0,28	0,31	0,43
21	„	1,0	0,11		0,14	0,21	0,25	0,28	0,30	0,42

Dieser merkwürdige Einfluß des Natriumphospats konnte entweder auf seinen Phosphorsäuregehalt oder auf seine schwach

alkalische Reaktion zurückzuführen sein. Zur Entscheidung haben wir Preßsaft unter Zusatz von Kaliumcarbonat lagern lassen. Die Tabelle IV gibt einige derartige Versuche wieder, wogegen in Tabelle V zwei vergleichende Experimente zwischen der Wirkung von Kaliumcarbonat und von Natriumphosphat auf lagernden Preßsaft zusammengestellt sind. Für die Beurteilung sämtlicher Versuche mit Potaschezusatz mag noch erwähnt werden, daß die Bestimmungen der Selbstgärung während des Lagerns stets erheblich zu niedrige Zahlen ergeben mußten, weil ein Teil des Kohlendioxyds infolge Bildung von Kaliumbicarbonat am Entweichen verhindert wird; bei Zusatz von 0,5 g Potasche können maximal etwa 0,16 g auf diese Weise festgelegt werden. Auch sekundäres Natriumphosphat wird imstande sein, geringe Mengen von Kohlensäureanhydrid aufzunehmen. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die mit Potasche versetzten Hefepreßsäfte im Gegensatz zur gelbbraunen normalen Färbung einen eigentümlichen blaugrauen Farbenton annehmen.

Tabelle IV.

Regenerierung des mit Kaliumcarbonat gelagerten Preßsaftes.

Je 20 ccm gelagerter Preßsaft mit 8 g Rohrzucker bzw. 8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von K_2CO_3 g	Während des Lagerns: Selbstgärung in 24 Std.	Nach 24 Stunden dauerndem Lagern Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen: 1	2	3	4	5	7	8
1	6. 1.	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol		1,00	1,13	1,14	1,15	—	—	—
2	„	0,17	0,12	8 g Rohrzucker	0,01	0,01	—	—	—	—	—
3	13. 1.	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol		0,83	1,13	1,20	1,20	—	—	—
4	„	—			0,84	1,13	1,20	1,20	—	—	—
5	„	0,17	0,07	8 g Rohrzucker	0,01	0,02	0,02	0,02	—	—	—
6	„		0,06		0,02	0,03	0,03	0,03	—	—	—
7	„		0,07	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,01	0,02	0,03	0,03	—	—	—
8	„		0,07		0,01	0,03	0,04	0,05	—	—	—
9	„	0,34	0,05	8 g Rohrzucker	0,01	0,02	0,02	0,02	—	—	—
10	„		0,05		0,01	0,02	0,02	0,02	—	—	—
11	„		0,05	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft A	0,14	0,18	0,23	0,26	0,29	0,32	0,33
12	„		0,05		0,14	0,18	0,21	0,24	0,27	0,31	0,33

Tabelle V.

Vergleich der Regenerierbarkeit von Preßsäften, die ohne und mit Kaliumcarbonat bzw. Natriumphosphat gelagert waren.

Je 20 ccm gelagerter Preßsaft mit 8 g Rohrzucker bzw. 8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von K_2CO_3 bzw. $Na_2HPO_4 + 12 H_2O$		Selbstgärung in 24 Std.	Nach 24 Stunden dauerndem Lagern Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen								
			g			1	2	3	4	5	6	7	8	14
1	3. 2.	—	—		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	1,35	1,66	1,72	1,73	—	—	—	—	—
2	"	—	—			1,32	1,63	1,70	1,71	—	—	—	—	—
3	"	—	—	0,19	8 g Rohrzucker	0,15	0,31	0,37	0,38	—	—	—	—	—
4	"	—	—	0,20		0,15	0,32	0,38	0,38	—	—	—	—	—
5	"	—	—	0,20	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	0,21	0,36	0,53	0,62	0,65	0,67	0,68	—	—
6	"	—	—	0,19		0,22	0,37	0,59	0,67	0,70	0,70	0,71	—	—
7	"	Kaliumcarbonat	0,34	0,18	8 g Rohrzucker	0,02	0,03	0,03	—	—	—	—	—	—
8	"	Kaliumcarbonat	0,34	0,18	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	1,27	1,90	2,32	2,57	2,77	2,83	2,88	2,93	3,09
9	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,14	8 g Rohrzucker	0,02	0,03	0,03	—	—	—	—	—	—
10	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,14	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	1,60	2,20	2,45	2,59	2,66	2,72	2,76	2,79	2,89
11	"	Kaliumcarbonat	1,0	0,00	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	1,22	1,83	2,15	2,24	2,30	2,35	2,40	2,42	2,53
12	"	Natriumphosphat	1,0	0,17	8 g Rohrzucker	0,42	0,74	0,94	1,06	1,09	1,10	1,10	—	—
13	"	Natriumphosphat	1,0	0,17	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft B	1,15	1,69	2,07	2,40	2,60	2,73	2,83	2,88	2,99
14	25. 2.	—	—		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,66	0,95	—	1,10	1,11	1,11	1,11	—	—
15	"	—	—			0,54	0,87	—	1,05	1,05	1,06	1,08	1,08	—
16	"	—	—	0,11	8 g Rohrzucker	0,02	—	0,06	0,09	0,11	0,11	—	—	—
17	"	—	—	0,10		0,02	—	0,15	0,16	0,17	—	—	—	—
18	"	—	—	0,10	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft C	0,04	—	0,47	0,65	0,68	0,70	0,71	—	—
19	"	—	—	0,10		0,04	—	0,52	0,64	0,68	0,71	0,72	—	—
20	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,11	8 g Rohrzucker	0,56	—	0,87	0,95	0,97	0,97	—	—	—
21	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,11		0,64	—	0,98	1,00	1,00	1,00	—	—	—
22	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,10	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft C	0,48	—	1,72	2,07	2,24	2,45	2,49	2,55	2,55
23	"	Kaliumcarbonat	0,5	0,12		0,70	—	1,83	2,11	2,27	2,52	2,57	2,67	2,73
24	"	Natriumphosphat	1,0	0,09	8 g Rohrzucker	0,41	—	0,84	0,93	0,95	0,96	—	—	—
25	"	Natriumphosphat	1,0	0,09	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft C	0,37	—	1,02	1,31	1,46	1,56	1,68	1,76	1,79

Aus den Tabellen IV und V ist zu ersehen, daß ein Zusatz von 0,85 % Kaliumcarbonat (0,17 g auf 20 ccm) zu einen Tag lang lagerndem Preßsaft weder Gärkraft noch Regenerierbarkeit zu erhalten vermag (s. Tabelle IV Nr. 2 und 5 bis 8) und daß ein solcher von 1,7 % (0,34 g auf 20 ccm) und von 2,5 % (0,5 g auf 20 ccm) zwar meistens nicht die Gärkraft, wohl aber immer die Regenerierbarkeit während eines Tages konserviert; auf Kochsaft- und Zuckerzusatz treten dann starke Gärungserscheinungen auf (Tabelle IV, 9 bis 12; V, 7 bis 10). Eine Ausnahme bilden die Versuche 20 bis 23 der Tabelle V insofern, als hier durch 2,5 % Kaliumcarbonat auch die Gärkraft erhalten blieb, was mit der besonderen Beschaffenheit des betreffenden Preßsaftes zusammenhängen dürfte und wahrscheinlich auf einen höheren Ko-Enzymgehalt als den gewöhnlichen zurückzuführen ist. (Einen ähnlichen Fall siehe Tabelle VII, 7 und 8.) Daß bei den Versuchen 11 und 12 der Tabelle IV, sowie 8, 10, 11, 22 und 23 der Tabelle V (ferner bei 9 und 10 der Tabelle VII) das im Kochsaft zugefügte Ko-Enzym über 2 Wochen lang wirksam geblieben ist, trotz des ursprünglichen Zusatzes von Kaliumcarbonat, wird darauf zurückzuführen sein, daß letzteres bald nicht mehr als solches vorhanden, sondern in Bicarbonat übergegangen war, dem eine viel schwächere verseifende Wirkung zukommen dürfte. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen aus Tabelle III konservierte ferner auch in dieser Versuchsreihe ein Zusatz von 5 % Natriumphosphat (1 g auf 20 ccm) sowohl die Gärkraft als die Regenerierbarkeit; auf Kochsaftzusatz wurde die Gärwirkung aber hier noch bedeutend erhöht (s. Tabelle V, 12, 13, 24 und 25), im Gegensatz zu Tabelle III (Nr. 4, 5, 18 bis 21), ein Verhalten, das vielleicht durch einen im Vergleich zum Zymasegehalt geringen Ko-Enzymvorrat der Preßsäfte vom 3. und 25. Februar, dagegen durch einen relativ hohen Ko-Enzymgehalt der Preßsäfte vom 15. Dezember und 6. Januar zu erklären ist.

Wenn wir die Wirkung von 2,5 % Carbonat und von 5 % Phosphat vergleichen, so hat ersteres in einem der vorliegenden Fälle das Ko-Enzym stärker geschädigt, so daß keine Gärkraft mehr nachweisbar, wogegen beim Phosphatzusatz die Gärkraft noch erhalten und somit das Ko-Enzym noch zum Teil wirksam geblieben war (s. Tabelle V, 9 bis 13). In der anderen der

beiden Versuchsreihen scheint, wie oben schon bemerkt, ein höherer Gehalt an Ko-Enzym vorhanden gewesen zu sein, so daß auch durch Potaschezusatz von 2,5 % das Ko-Enzym nicht völlig zerstört worden war (s. Tabelle V, 20 und 21). Die hier zuerst aufgetauchte Vermutung, daß Kaliumcarbonat eine schädigende Wirkung speziell auf das Ko-Enzym ausübe, ist inzwischen durch besondere Lagerungsversuche von Kochsaft unter Zusatz dieses Salzes erwiesen worden (vgl. Tabelle XII). Die Gegenwart von Kaliumcarbonat wird somit die Verseifung des Ko-Enzyms begünstigen und dadurch den Preßsaft rascher wirkungslos machen. Andererseits dürfte es aber die Wirkung der Zymase befördern, indem es diese vor der Endotryptase schützt, welche nach M. Hahn am schnellsten in saurer Lösung arbeitet[1]), und ihre chemische Wirkung auf das Zuckermolekül unterstützt, dessen Zerfall am leichtesten in Gegenwart von alkalischen Stoffen erfolgt. So erklärt sich, daß geringe Zugaben von Kaliumcarbonat zu normal gärendem Preßsaft nach früheren Versuchen die Angärung außerordentlich beschleunigen, daß aber bald ein Stillstand der Gärwirkung eintritt, früher als ohne jenen Zusatz[2]). 5 % Kaliumcarbonat verursachen im Preßsaft eine starke Fällung; trotzdem derselbe breiförmig wird, geht die Regenerierbarkeit nicht verloren (s. Tabelle V, Nr. 11).

Zur weiteren Charakterisierung der Vorgänge im lagernden Preßsaft wurde der Einfluß von Glycerin untersucht (siehe Tabelle VI). Es ergab sich, daß $^1/_2$ bis 1 Volumen dieses Stoffes die Gärkraft 24 Stunden fast unverändert und 48 Stunden in hohem Grade erhalten und daß immer eine sehr starke Aktivierung des gelagerten Preßsaftes auf Kochsaftzusatz hervortritt. Allerdings werden die Gärungserscheinungen um etwa die doppelte Zeit hinausgezögert, d. h. es sind 8 und mehr Tage nötig bis zur vollen Abwicklung. Ähnliches wurde auch schon früher berichtet[3]) und dürfte einfach eine Folgeerscheinung der großen Viscosität der Flüssigkeit sein. Das Ko-Enzym scheint unter diesen Umständen nur sehr langsam angegriffen zu werden. Wie M. Hahn berichtet, wird auch die Proteolyse des Preßsaftes durch Glycerinzusatz erheblich behindert[4]).

---

[1]) E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, München 1903, S. 318.

[2]) Ebenda S. 141. — [3]) Ebenda S. 172. — [4]) Ebenda S. 316.

Tabelle VI.

Regenerierung des mit Glycerin gelagerten Preßsaftes.

Je 20 ccm Preßsaft mit 8 g Rohrzucker bzw. 8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von Glycerin	Während des Lagerns: Selbstgärung in g nach Stunden		Nach 24 bzw. 48 Stunden dauerndem Lagern Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen								
		ccm	24	48		1	2	3	4	5	6	7	8	10
1	22. 4.	—			Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,89	1,21	1,27	1,28	—	—	—	—	—
2	"	—				0,90	1,22	1,28	1,29	—	—	—	—	—
3	"	—	0,08	—	8 g Rohrzucker	0,02	—	0,03	0,03	—	—	—	—	—
4	"	—	0,08	—	nach 24 Std.	0,02	—	0,02	0,02	—	—	—	—	—
5	"	—	0,08	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft F	0,02	—	0,06	0,13	0,16	0,18	—	—	—
6	"	—	0,08	—	nach 24 Std.	0,02	—	0,06	0,12	0,14	0,16	—	—	—
7	"	10	0,04	—	8 g Rohrzucker	0,34	0,70	0,88	1,03	1,11	1,15	1,16	1,17	—
8	"	10	0,04	—	nach 24 Std.	0,32	0,67	0,85	1,00	1,10	1,15	1,16	1,17	—
9	"	10	0,04	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft F	0,95	1,84	2,20	2,69	2,97	3,14	3,20	3,25	3,34
10	"	10	0,04	—	nach 24 Std.	0,78	1,55	2,08	2,57	2,91	3,09	3,16	3,21	3,26
11	"	10	0,04	0,07	8 g Rohrzucker	0,17	0,33	0,49	0,58	0,63	0,66	0,67	—	—
12	"	10	0,04	0,06	nach 48 Std.	0,17	0,30	0,41	0,57	0,62	0,65	0,66	—	—
13	"	10	0,04	0,07	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft F	0,79	1,29	1,82	2,19	2,50	2,64	2,67	2,78	2,79
14	"	10	0,04	0,06	nach 48 Std.	0,68	1,26	1,74	2,21	2,50	2,64	2,66	2,71	2,72
15	26. 4.	—			Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,74	1,26	1,36	—	—	—	—	—	—
16	"	—				0,71	1,23	1,34	—	—	—	—	—	—
17	"	—	0,20	—		0,38	0,56	0,56	—	—	—	—	—	—
18	"	—	0,22	—	8 g Rohrzucker	0,40	0,57	0,58	—	—	—	—	—	—
19	"	20	0,03	—	nach 24 Std.	0,32	0,60	0,80	0,90	1,05	1,15	1,22	1,27	1,31
20	"	20	0,04	—		0,32	0,55	0,78	0,89	1,02	1,12	1,22	1,27	1,29

In Tabelle VII sind endlich noch die Ergebnisse eines vergleichenden Versuches zusammengestellt, bei welchem derselbe Preßsaft mit 2,5 % Kaliumcarbonat, mit 5 % Natriumphosphat und unter Zusatz von $^1/_2$ Volumen Glycerin gelagert wurde. Dabei erwies sich das Glycerin als das günstigste Konservierungsmittel: es erhält die Gärkraft, verlangsamt demnach in hohem Grade die schädigende Wirkung der Endotryptase und der Lipase und schädigt Zymase und Ko-Enzym nicht nachweisbar.

Tabelle VII.

Regenerierung von Preßsaft nach Lagern mit Kaliumcarbonat, bzw. Natriumphosphat, bzw. Glycerin.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von K_2CO_3 bzw. Na_2HPO_4 $+12H_2O$ bzw. Glycerin		Während des Lagerns: Selbstgärung in 24 Stunden	Nach 24 Std. dauerndem Lagern Zusatz von	Kohlendioxyd in g in Tagen: 1	2	3	4	5	6	7	8	10
1	6. 5.	—	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Tolul.		0,80	1,08	—	1,15	1,16	1,16	—	—	—
2	„	—	—			0,76	1,04	—	1,13	1,16	1,16	—	—	—
3	„	—	—	0,15	8 g Rohrzucker	0,02	—	0,02	—	—	—	—	—	—
4	„	—	—	0,15		0,02	—	0,02	—	—	—	—	—	—
5	„	—	—	0,14	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,02	—	0,05	0,06	—	—	—	—	—
6	„	—	—	0,14		0,02	—	0,04	0,05	—	—	—	—	—
7	„	K_2CO_3	0,5 g	0,19	8 g Rohrzucker	0,26	—	0,33	0,34	—	—	—	—	—
8	„			0,19		0,25	—	0,35	0,36	—	—	—	—	—
9	„	K_2CO_3	0,5 g	0,19	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,46	—	1,27	1,50	1,60	1,65	1,68	1,68	—
10	„			0,18		0,45	—	1,27	1,52	1,63	1,69	1,72	1,72	—
11	„	Na_2HPO_4 $+12H_2O$	1,0 g	0,16	8 g Rohrzucker	0,31	—	0,51	0,53	0,54	—	—	—	—
12	„			0,17		0,31	—	0,54	0,55	0,56	—	—	—	—
13	„	Na_2HPO_4 $+12H_2O$	1,0 g	0,17	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,34	—	0,99	1,12	1,17	1,20	1,21	—	—
14	„			0,17		0,40	—	0,98	1,13	1,20	1,22	1,23	—	—
15	„	Glycerin	10 ccm	0,10	8 g Rohrzucker	0,34	—	0,88	1,03	1,09	1,12	1,12	—	—
16	„			0,09		0,32	—	0,85	1,00	1,07	1,10	1,10	—	—
17	„	Glycerin	10 ccm	0,10	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,53	—	1,46	1,81	2,01	2,16	2,21	2,26	2,29
18	„			0,10		0,53	—	1,48	1,83	2,04	2,19	2,24	2,27	2,30

Da das alkalisch reagierende Kaliumcarbonat so großen Einfluß auf lagernden Preßsaft ausübt, so haben wir versucht, wie letzterer sich bei Zusatz von geringen Mengen von Säure bis zu deutlich saurer Reaktion verhält (s. Tabelle VIII). Zu 20 ccm frischen Hefepreßsaftes wurden tropfenweise je 4 ccm $^{n}/_{10}$-Salzsäure unter Umschütteln zugefügt (Nr. 5 und 6); die im ersten Augenblick eintretende Trübung verschwindet wieder allmählich. Zum Vergleiche wurden zu eben demselben Preßsaft 4 ccm Wasser hinzugegeben (Nr. 3 und 4). Sämtliche Versuche blieben dann 24 Stunden bei 22° stehen. Nun wurde Zucker bzw. Kochsaft und Zucker zugefügt, ohne daß vorher die zugesetzte Salzsäure der Versuche 5 und 6 neutralisiert worden war. Der Salzsäurezusatz hatte die Gärkraft fast vollständig vernichtet und die Regenerierbarkeit sehr stark

herabgedrückt. Es ist demnach eine starke Schädigung nicht nur des Ko-Enzyms, sondern besonders der Zymase nachgewiesen, welche auf eine Begünstigung der verdauenden Wirkung der Endotryptase hindeutet, wie eine solche auch nach den Erfahrungen von M. Hahn durch Ansäuern zu erwarten steht. Das Auftreten von Kohlensäure bei den normalen Preßsaftgärungen dürfte ähnlich die Zerstörung der Zymase durch das proteolytische Enzym beschleunigen.

Tabelle VIII.

Regenerierung von Preßsaft nach Lagern mit Salzsäure.

Nummer	Datum	Während des Lagerns: Zusatz von:	Während des Lagerns: Selbstgärung in 24 Std.	Nach 24 Stunden dauerndem Lagern Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen: 1	2	3	4	5	6	7	8
1	13. 2.	—		Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft, + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,78	1,36	1,44	1,48	1,48	—	—	—
2	„	—			0,76	1,35	1,44	1,48	1,48	—	—	—
3	„	4 ccm H_2O	0,13	8 g Rohrzucker	0,13	0,19	0,19	—	—	—	—	—
4	„	4 ccm H_2O	0,13	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,11	0,35	0,56	0,68	0,78	0,84	0,90	0,90
5	„	4 ccm $^n/_{10}$-HCl	0,11	8 g Rohrzucker	0,01	0,02	0,02	—	—	—	—	—
6	„	4 ccm $^n/_{10}$-HCl	0,11	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft	0,05	0,25	0,40	0,47	0,52	0,53	—	—

Nachdem sich beim Lagern des Preßsaftes ein Zusatz von Kaliumcarbonat günstig erwiesen hatte, schien es wünschenswert, die Wirkung dieses Körpers auf die normale zellfreie Gärung zu prüfen. Mit geringen Mengen (0,85 und 1,7 %, berechnet auf den Preßsaft) sind solche Versuche schon ausgeführt worden[1]). Sie ergaben bei 0,85 % eine sehr starke Angärung, aber eine baldige Beendigung des Vorganges, so daß der gesamte Umfang der Gärung dem unter normalen Bedingungen ungefähr wieder gleich kam, bei 1,7 % aber nur eine sehr geringe Gesamtgärwirkung, im Vergleiche zu welcher die

[1]) E. u. H. Buchner u. M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 141.

Angärung auch wieder außerordentlich groß war. Setzt man nun 2,5% Kaliumcarbonat zu (0,5 g auf 20 ccm), so unterbleibt auch die anfängliche Beschleunigung vollständig. Es wird sogar schon während des ersten Tages sehr viel weniger Kohlendioxyd entwickelt als ohne Zusatz; der Gärungsvorgang geht sehr bald zu Ende und erreicht nicht entfernt die normale Höhe.

Die Gärkraft und besonders die Angärung erscheint hier allerdings zum Teil deshalb so gering, weil erhebliche Mengen an Kohlendioxyd infolge Bildung von primärem Kaliumcarbonat festgehalten und nicht als Gewichtsverlust bemerkbar werden. Da aber durch 0,5 g K_2CO_3, wie bereits auseinandergesetzt, maximal nur 0,16 g CO_2 aufgenommen werden können, ist dieser Vorgang nicht umfangreich genug, um den starken Rückgang der Gärwirkung zu erklären. Offenbar tritt noch eine weitere Ursache dazu, nämlich der verseifende Einfluß der Pottasche auf das Ko-Enzym, welcher schon oben erwähnt wurde und von dem in Tabelle XII ausführlich berichtet wird.

Tabelle IX.

Wirkung von Kaliumcarbonat bzw. Natriumphosphat auf die normale Preßsaftgärung.

Nummer	Datum	Zusatz von:	Kohlendioxyd in g nach Tagen			
			1	2	3	4
1	9. 3.	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,29	0,46	0,50	0,51
2	„		0,28	0,46	0,51	0,52
3	„	0,5 g Kaliumcarbonat	0,08	0,10	0,11	0,11
4	„	0,5 g „	0,08	0,09	0,09	0,09
5	„	1,0 g Natriumphosphat	0,55	0,70	0,71	0,71
6	„	1,0 g „	0,56	0,71	0,73	0,73
7	11. 5.	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.	0,67	0,91	0,94	0,95
8	„		0,66	0,93	0,96	0,96
9	„	0,5 g Kaliumcarbonat	0,22	0,25	0,26	0,26
10	„	0,5 g „	0,20	0,22	0,24	0,24

Konservierung von frischem Preßsaft durch Kochsaftzusatz.

Es liegen zwei Versuchsreihen vor (s. Tabellen Xa u. Xb). Um durch die mehrmaligen Kochsaftzusätze den Preßsaft nicht übermäßig zu verdünnen, bedienten wir uns eines konzentrierten Kochsaftes. 500 ccm normal hergestellten Kochsaftes wurden im luftverdünnten Raum bei einer Temperatur, die 30° nicht überstieg, und unter Zusatz von etwas Olivenöl behufs Mäßigung des starken Schäumens innerhalb 1 Stunde auf 125 ccm eingedampft. Der so erhaltene „konzentrierte“ Kochsaft stellt eine braune, im Gegensatz zum normalen Kochsaft undurchsichtige Flüssigkeit von neutraler Reaktion vor. Von diesem Präparat wurden auf 20 ccm Preßsaft vor Beginn des Lagerns, sodann nach 1, 2 und 3 Tagen je 5 ccm zugesetzt und nach 1, 2 oder 4 Tagen dauerndem Lagern sowohl die Gärkraft (durch Zusatz von Zucker) als die Regenerierbarkeit (durch Zusatz von Zucker und 20 ccm normalem Kochsaft) geprüft. Kontrollversuche mit Preßsaft, der ohne Zusatz lagerte, ergaben eine sehr erhebliche Abnahme der Gärkraft und der Regenerierbarkeit bereits nach 24 Stunden (s. Tabellen Xa, 3 bis 6; Xb, 5 bis 8). Die Versuche mit Zusatz von konzentriertem Kochsaft wiesen dagegen nach 1, nach 2 und sogar nach 4 Tagen noch äußerst starke Gärkraft und vorzügliche Aktivierbarkeit auf. Bei der Versuchsreihe der Tabelle Xb wurde auch die Aktivierbarkeit des frischen Preßsaftes durch Zusatz von 20 ccm Kochsaft geprüft (Nr. 3 und 4); es ergab sich eine Gärkraft von rund 1,9 g Kohlendioxyd. Da noch weiter gesteigerte Kochsaftzusätze erfahrungsgemäß keine Erhöhung der Gärkraft mehr zur Folge haben, war damit die überhaupt mit diesem Safte erreichbare Gärleistung erzielt. Das gleiche Ergebnis hat nun die Aktivierung nach 1, 2 und beinahe auch noch nach 4tägigem Stehen des Saftes unter Kochsaftzusatz erzielt (Nr. 11, 12, 15, 16, 19 u. 20). Man kann demnach sagen, daß es durch den häufigen Kochsaftzusatz gelungen ist, die Zymase 2 Tage vollständig und 4 Tage lang fast unverändert zu konservieren.

Hingewiesen sei endlich noch auf die starke Selbstgärung der Preßsäfte während des Lagerns unter Zusatz von konzentriertem Kochsaft, eine Folge des hohen Glykogengehaltes des letzteren.

Tabelle Xa.

Konservierung des Preßsaftes beim Lagern durch Kochsaft.

Nummer	Datum	Zusatz von je 5 ccm konz. Kochsaft	Selbstgärung. Kohlendioxyd in g nach Tagen				Zusatz		Kohlendioxyd in g nach Tagen										
			1	2	3	4	von	nach Tag.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	14	18
1	4. 5.	—	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.						0,86	1,13	1,18	1,18	—	—	—	—	—	—	—
2	"	—							0,84	1,12	1,17	1,18	—	—	—	—	—	—	—
3	"	—	0,22	—	—	—	8 g Rohrzucker	1	0,03	0,06	0,07	—	—	—	—	—	—	—	—
4	"	—	0,22	—	—	—		1	0,04	0,07	0,07	—	—	—	—	—	—	—	—
5	"	—	0,22	—	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft G	1	0,07	0,18	0,22	—	0,24	0,24	—	—	—	—	—
6	"	—	0,22	—	—	—		1	0,07	0,15	0,19	—	0,22	0,22	—	—	—	—	—
7	"	Am Anfang	0,23	—	—	—	8 g Rohrzucker	1	0,66	1,20	1,38	—	1,64	1,71	1,72	1,73	—	—	—
8	"		0,23	—	—	—		1	0,67	1,20	1,39	—	1,65	1,70	1,72	1,73	—	—	—
9	"		0,23	—	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft G	1	0,70	1,43	1,78	—	2,21	2,33	2,41	2,46	2,47	—	—
10	"		0,23	—	—	—		1	0,75	1,46	1,79	—	2,26	2,38	2,44	2,49	2,50	—	—
11	"	Am Anfang und nach 1 Tag	0,22	0,32	—	—	8 g Rohrzucker	2	0,63	1,04	—	1,56	1,74	1,82	1,87	1,89	1,90	—	—
12	"		0,22	0,32	—	—		2	0,63	1,04	—	1,54	1,74	1,79	1,84	1,87	1,87	—	—
13	"		0,22	0,33	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft G	2	0,61	1,15	—	1,97	2,21	2,31	2,46	2,54	2,61	2,74	—
14	"		0,23	0,34	—	—		2	0,62	1,16	—	2,03	2,26	2,36	2,51	2,58	2,64	2,74	—
15	"	Am Anfang, nach 1, 2 u. 3 Tagen	0,22	0,34	0,44	0,49	8 g Rohrzucker	4	0,45	0,75	1,09	1,30	1,47	1,57	1,66	—	1,75	1,84	—
16	"		0,22	0,34	0,45	0,50	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft G	4	0,46	0,65	0,92	1,20	1,52	1,72	1,88	—	2,13	2,35	2,46

Tabelle Xb.

Konservierung des Preßsaftes beim Lagern durch Kochsaft.

Nummer	Datum	Zusatz von je 5 ccm konz. Kochsaft	Selbstgärung. Kohlendioxyd in g nach Tagen				Zusatz		Kohlendioxyd in g nach Tagen											
			1	2	3	4	von:	nach Tag.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	14. 5.	—					Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.		0,52	0,82	0,94	0,96	0,97	—	—	—	—	—	—	—
2	"	—							0,50	0,80	0,93	0,95	0,96	—	—	—	—	—	—	—
3	"	—					Aktivierung: 20 ccm Preßsaft + 20 ccm Kochsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol.		0,61	1,12	1,55	1,77	1,85	—	1,88	1,88	—	—	—	—
4	"	—							0,60	1,12	1,53	1,75	1,84	—	1,87	1,87	—	—	—	—
5	"	—	0,13	—	—	—	8 g Rohrzucker	1	0,01	0,02	0,02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	"	—	0,13	—	—	—		1	0,01	0,02	0,02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	"	—	0,13	—	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft H	1	0,02	0,07	0,11	0,11	—	—	—	—	—	—	—	—
8	"	—	0,13	—	—	—		1	0,02	0,07	0,10	0,11	—	—	—	—	—	—	—	—
9	"	Am Anfang	0,13	—	—	—	8 g Rohrzucker	1	0,27	0,72	1,02	1,22	—	1,32	1,36	—	1,36	—	—	—
10	"		0,13	—	—	—		1	0,27	0,73	1,04	1,24	—	1,34	1,35	—	1,35	—	—	—
11	"		0,13	—	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft H	1	0,27	0,75	1,27	1,61	—	1,77	1,83	—	1,88	—	1,89	1,89
12	"		0,13	—	—	—		1	0,27	0,80	1,27	1,61	—	1,81	1,87	—	1,92	—	1,93	1,93
13	"	Am Anfang und nach 1 Tag	0,13	0,21	—	—	8 g Rohrzucker	2	0,33	0,73	1,05	—	1,28	1,33	—	1,37	1,38	—	—	—
14	"		0,13	0,21	—	—		2	0,34	0,71	1,04	—	1,28	1,33	—	1,36	1,37	—	—	—
15	"		0,13	0,21	—	—	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft H	2	0,28	0,80	1,25	—	1,61	1,73	—	1,87	1,92	1,95 [1])	—	—
16	"		0,13	0,21	—	—		2	0,28	0,79	1,21	—	1,57	1,69	—	1,86	1,91	1,94 [1])	—	—
17	"	Am Anfang, nach 1, 2 u. 3 Tagen	0,13	0,22	0,30	0,37	8 g Rohrzucker	4	0,50	—	0,93	0,97	—	1,23	1,30	1,30	—	—	—	—
18	"		0,13	0,21	0,29	0,36		4	0,52	—	0,93	1,03	—	1,22	1,27	1,27	—	—	—	—
19	"		0,13	0,21	0,29	0,37	8 g Rohrzucker + 20 ccm Kochsaft H	4	0,57	—	1,14	1,35	—	1,65	1,75	1,80 [1])	—	—	—	—
20	"		0,13	0,21	0,29	0,35		4	0,59	—	1,16	1,37	—	1,62	1,74	1,79 [1])	—	—	—	—

[1]) Diese Versuche mußten aus äußeren Gründen abgebrochen werden, bevor der Gärungsvorgang vollständig zu Ende gegangen war.

Verhalten des Kochsaftes gegenüber Lipase und gegenüber Pottasche.

Zur Charakterisierung der wirksamen Stoffe im Kochsaft schienen uns zur Ergänzung der Arbeiten von Buchner und Klatte einige weitere Versuche mit Lipasen erwünscht; sie sind in Tabelle XI zusammengestellt und bestätigen das frühere Ergebnis. Auch diesmal bedienten wir uns einer Lipase-Emulsion aus Ricinussamen, für deren Überlassung wir den Vereinigten Chemischen Werken, A.-G., Charlottenburg, insbesondere Herrn Dr. E. Hoyer, besten Dank aussprechen. Die Veränderung des Kochsaftes beim Lagern mit dem Lipasebrei wurde jeweils durch Zusatz zu ausgegorenen Preßsäften ermittelt und trat deutlich in der Abnahme der Regenerationswirkung hervor. Es liegen zwei Versuchsreihen vor (s. Tab. XI). Die Versuche 1, 2, 11 u. 12 wurden ausgeführt mit normalem, nicht mit lipolytischen Enzymen behandeltem Kochsaft und dienen zum Vergleich; ebenso die Versuche 3, 4, 13 und 14, bei welchen die Lipase-Emulsion durch 15 Minuten dauerndes Aufkochen unter Zusatz von einigen Kubikzentimetern Wasser, welche nach dem Abkühlen schließlich wieder abgegossen werden können, da sie sich nicht mischen, ihrer Wirkung größtenteils beraubt worden war. Der Lipasebrei — und zwar 5 ccm auf 20 ccm Kochsaft — blieb bei der ersten Versuchsreihe (Versuche 3 bis 10) mit dem Kochsaft 1 Tag bei 22° stehen, bei den Versuchen der zweiten Reihe (13 bis 18) 3 Tage bei 35°. Vor Feststellung der Regenerationswirkung wurde immer kurz aufgekocht (2 Min.), um eine weitere Einwirkung der Lipase zu verhindern. Da nach den Erfahrungen von Connstein, Hoyer und Wartenberg die Reaktion der Lösung von außerordentlichem Einfluß auf die Schnelligkeit der Lipasewirkung ist, haben wir die Versuche 5 und 6 mit der unveränderten Lipase-Emulsion, 7 und 8 mit solcher der 0,015 g Essigsäure und 9, sowie 10 mit solcher, der 0,030 g dieser Verbindung zugesetzt worden waren, durchgeführt. Ein Unterschied wurde dadurch nicht veranlaßt, d. h. die aus der Fabrik bezogene Lipase-Emulsion besitzt eben schon den genügenden Säuregehalt. Ferner sind die Experimente 15 und 16 wieder mit unverändertem Lipasebrei, 17 und 18 unter Zusatz von

0,5 g Kaliumcarbonat auf 5 ccm Lipase-Emulsion ausgeführt. Auch diese letzten zwei Versuche, welche vor dem Zufügen zum ausgegorenen Preßsaft in der unten beschriebenen Weise (s. die Ausführungen zu Tabelle XII) mit Phosphorsäure neutralisiert worden waren, ergaben, wie 15 und 16, eine fast vollständige Vernichtung der Regenerationswirkung, obwohl doch die Lipase durch die alkalische Reaktion sehr stark gehindert worden sein dürfte. Wie in Tabelle XII gezeigt wird, zerstört aber Potasche schon für sich die wirksamen Stoffe des Kochsaftes.

Tabelle XI.

Regenerationswirkung von mit Lipase gelagertem Kochsaft.

Nummer	Datum	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. CO_2 in g nach Tagen			Zusatz zum ausgegorenen Preßsaft von 20 ccm Kochsaft + 4 g Zucker + 0,2 ccm Toluol. Vorbehandlung des Kochsaftes		Regenerationswirkung: Kohlendioxyd in g nach Tagen				
		1	2	3	Gelagert mit	Zeit u. Temp.	1	2	3	4	5
1	26. April	0,74	1,26	1,36	normaler Kochsaft (Kontrolle)	1 Tag bei 22°	0,16	0,26	—	0,41	0,42
2	„	0,71	1,23	1,34			0,17	0,28	—	0,42	0,43
3	„	0,75	1,26	1,37	aufgekochter Lipase-Emulsion		0,15	0,23	—	0,32	0,32
4	„	0,76	1,30	1,39			0,13	0,22	—	0,31	0,32
5	„	0,72	1,28	1,38	frischer Lipase-Emulsion		0,08	0,11	—	0,14	0,14
6	„	0,70	1,24	1,36			0,08	0,11	—	0,14	0,14
7	„	0,76	1,27	1,37	stärker angesäuerter Lipase-Emulsion		0,06	0,09	—	0,12	0,12
8	„	0,76	1,31	1,39			0,06	0,09	—	0,12	0,12
9	„	0,70	1,23	1,33	noch mehr angesäuerter Lipase Emulsion		0,06	0,09	—	0,12	0,12
10	„	0,70	1,23	1,33			0,06	0,09	—	0,12	0,12
11	11. Mai	0,56	0,84	0,89	normaler Kochsaft (Kontrolle)	3 Tage bei 35°	0,07	—	0,17	0,19	0,20
12	„	0,54	0,84	0,89			0,08	—	0,17	0,19	0,20
13	„	0,48	0,83	0,90	aufgekochter Lipase-Emulsion		0,06	—	0,10	0,13	—
14	„	0,58	0,85	0,90			0,06	—	0,10	0,13	—
15	„	0,57	0,81	0,90	frischer Lipase-Emulsion		0,01	—	0,01	—	—
16	„	0,56	0,84	0,90			0,01	—	0,01	—	—
17	„	0,56	0,84	0,90	Lipase-Emulsion unter Potasche-Zusatz		0,01	—	0,01	—	—
18	„	0,56	0,81	0,90			0,01	—	0,01	—	—

Bei Betrachtung der Versuche über die Einwirkung von Kaliumcarbonat auf lagernden Preßsaft hatte sich die Vermutung eingestellt, daß jener Stoff schädlich auf das Ko-Enzym einwirke. Dadurch war Veranlassung gegeben, zu prüfen, ob Potasche auch auf lagernden Kochsaft eine schädliche Wirkung ausübt. Tatsächlich hat sich dies als zutreffend erwiesen (s. Tabelle XII). In zwei Versuchsreihen wurde ausgegorener Preßsaft regeneriert durch normal hergestellten Kochsaft, durch Kochsaft, der 3 Tage bei 35° gestanden (Kontrollversuche) und durch Kochsaft, der unter Zusatz von Kaliumcarbonat (0,5 g auf 20 ccm) 3 Tage bei 35° gelagert hatte. Die letzterwähnten Versuche (Nr. 5, 6, 11 und 12) verliefen negativ, d. h. der Kochsaft hatte seine Regenerationswirkung eingebüßt. Der 3 Tage bei 35° aufbewahrte Kochsaft der Kontrollversuche 3, 4, 9 und 10 zeigte dagegen noch eine sehr deutliche Wirkung; daß sie in allen Fällen geringer ausfiel als die des normalen Kochsaftes (Nr. 1, 2, 7 und 8), wird wahrscheinlich auf den ungünstigen Einfluß des langen Stehens bei erhöhter Temperatur zurückzuführen sein. Wie im folgenden gezeigt wird, setzt mehrmaliges Aufkochen des Kochsaftes dessen Wirksamkeit regelmäßig herab; ähnlichen, wenn auch viel schwächeren Einfluß wird langes Lagern bei 35° ausüben. Bemerkt sei ferner, daß bei den Versuchen 5, 6, 11 und 12, nachdem sie 3 Tage gestanden hatten, neutralisiert wurde, um eine weitere Wirkung der Potasche während der Regenerierung auszuschließen. Es kam dazu Phosphorsäure zur Verwendung, damit die entstehenden Salze keine Störung hervorrufen; nachdem schwach angesäuert war, wurde vorsichtig mit Natronlauge neutral gemacht. Erwähnt mag endlich noch sein, daß der 3 Tage bei 35° lagernde Kochsaft täglich eines erneuten Zusatzes von 0,2 ccm Toluol bedarf, da sich dieser Stoff bei der erhöhten Temperatur rasch durch den Wattestopfen hindurch verflüchtigt.

Verhalten des Kochsaftes bei mehrmaligem Aufkochen.

Nachdem gezeigt wurde, daß Kochsaft durch Lipasen, sowie schon durch Stehen mit Potasche bei 35° sehr geschädigt wird, ist es nicht überraschend, daß auch längeres Erhitzen ungünstig einwirkt. Die beiden Versuchsreihen der Tabelle XIII

Tabelle XII.

Regenerationswirkung von mit Pottasche behandeltem Kochsaft.

Nummer	Datum	Gärkraftbestimmung: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol. Kohlendioxyd in g nach Tagen			Zusatz nach 3 Tagen von 20 ccm Kochsaft + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol	Regenerationswirkung: Kohlendioxyd in g nach Tagen				
		1	2	3		1	2	3	4	5
1	11. Mai	0,56	0,84	0,89	20 ccm normalem Kochsaft[1])	0,07	—	0,17	0,19	0,20
2	„	0,54	0,84	0,89		0,08	—	0,17	0,19	0,20
3	„	0,48	0,83	0,90	20 ccm Kochsaft, der 3 Tage bei 35° gestanden hat	0,06	—	0,10	0,13	0,13
4	„	0,58	0,85	0,90		0,06	—	0,10	0,13	0,13
5	„	0,59	0,85	0,90	20 ccm Kochsaft, der 3 Tage bei 35° mit 0,5 g K_2CO_3 gestanden hat	0,01	—	0,01	—	—
6	„	0,59	0,85	0,90		0,01	—	0,01	—	—
7	18. Mai	0,52	—	0,62[2])	20 ccm normalem Kochsaft[3])	0,10	—	0,22	0,23	—
8	„	0,50	—	0,61		0,10	—	0,22	0,22	—
9	„	0,54	—	0,65	20 ccm Kochsaft, der 3 Tage bei 35° ohne Zusatz gestanden hat	0,10	—	0,18	0,18	—
10	„	0,51	—	0,62		0,10	—	0,16	0,16	—
11	„	0,44	—	0,65	20 ccm Kochsaft, der 3 Tage bei 35° mit 0,5 g K_2CO_3 gestanden hat	0,00	—	0,00	0,00	—
12	„	0,49	—	0,65		0,00	—	0,00	0,00	—

lassen erkennen, daß jedes Aufkochen des Kochsaftes mit einer Schädigung verbunden und daß nach 6maligem Aufkochen (es wurde jedesmal bis eben zu starkem Aufschäumen erhitzt und dann etwa $^1/_2$ Stunde lang wieder abkühlen gelassen) nur mehr $^1/_4$ bis $^1/_5$ der ursprünglichen Regenerationswirkung vorhanden ist. Es dürfte sich dabei um eine hydrolytische Spaltung der wirksamen Stoffe handeln. Beim Aufkochen tritt manchmal eine beträchtliche Trübung ein, die nur aus der heißen Flüssigkeit abfiltriert werden kann, da sie sich beim Erkalten wieder auflöst; das Abfiltrieren zeigte keinen großen, und zwar einen schwach begünstigenden Einfluß.

Die Resultate führen praktisch zur Erkenntnis, daß der Kochsaft bei seiner Herstellung nur möglichst kurze Zeit erhitzt werden darf, sonst erleidet er Schaden.

[1]) Kochsaft war 10 Tage alt.

[2]) Gärkraft nach 4 Tagen: 0,62 g CO_2.

[3]) Kochsaft war frisch bereitet.

Tabelle XIII.

Längeres Erhitzen des Kochsaftes vermindert seine Wirksamkeit.

Nummer	Datum	Gärkraftbestimmung: Je 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol gaben nach 3 Tagen Kohlendioxyd in g	Zusatz nach 3 Tagen von 20 ccm Kochsaft + 4 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol	Kohlendioxyd in g nach Tagen				
				1	2	3	4	5
1	27. Okt.	1,50	normaler Kochsaft	0,18	0,33	0,39	0,41	0,42
2	"	1,52		0,18	0,32	0,38	0,40	0,40
3	"	1,49	3mal aufgekochter	0,09	0,22	0,26	0,28	0,29
4	"	1,49	Kochsaft	0,12	0,25	0,29	0,31	0,31
5	"	1,46	3mal aufgekocht und	0,12	0,26	0,33	0,36	0,37
6	"	1,48	heiß filtriert	0,13	0,26	0,33	0,35	0,37
7	10. Nov.	1,65	normaler Kochsaft	0,25	0,37	0,44	0,49	0,50
8	"	1,67		0,24	0,36	0,43	0,47	0,48
9	"	1,68	3mal aufgekochter	0,21	0,30	0,35	0,37	0,38
10	"	1,66	Kochsaft	0,21	0,31	0,36	0,39	0,40
11	"	1,65	4mal aufgekocht und	0,18	0,27	0,31	0,33	0,33
12	"	1,65	heiß filtriert	0,19	0,28	0,32	0,34	0,35
13	"	1,71	4mal aufgekocht ohne	0,17	0,25	0,29	0,31	—
14	"	1,74	zu filtrieren	0,17	0,25	0,28	0,29	—
15	"	1,65	6mal aufgekocht ohne	0,07	0,10	0,11	0,12	—
16	"	1,64	zu filtrieren	0,07	0,09	0,10	0,10	—

Untersuchungen über die Urikase in den Tiergeweben.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 22. Mai 1909.)

Mit 4 Figuren im Text.

I.

Mit dem Namen Urikase[1]) haben wir ein oxydierendes, in mehreren Tiergeweben vorkommendes Ferment bezeichnet, das die Harnsäure unter Kohlensäureentwicklung zu Allantoin oxydiert, nach der Formel:

$$C_6H_4N_4O_3 + H_2O + O = C_4H_6N_4O_3 + CO_2.$$

Die Harnsäurezersetzung durch überlebende Tierorgane ist von zahlreichen Forschern studiert worden und größtenteils einem besonderen Fermente, dem urikolytischen Fermente, zugeschrieben worden. Es ist jedoch möglich, vielmehr wahrscheinlich, daß die Harnsäurezersetzung nicht durch einen einzigen Prozeß bedingt sei. So beobachtete Croftan[2]), daß die Menschenleber und Niere die Harnsäure im Laufe von 48 Stunden energisch zersetzen, während Wiechowski[3]) bei energischem Schütteln dieser Gewebe in Gegenwart von Sauerstoff im Laufe von 4 Stunden keine Harnsäurezerstörung konstatierte. Man

---

[1]) Battelli et Stern, Recherches sur les échanges gazeux produits par le ferment uricolytique. Soc. de Biol. 66, 411, 1909. — Idem, L'uricase dans les différents tissus animaux. Soc. de Biol 66, 612, 1909.

[2]) Croftan, Zur Kenntnis der Harnsäureumwandlung im Tier- und Menschenkörper. Pflügers Archiv 121, 377, 1908.

[3]) Wiechowski, Über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im menschlichen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 185, 1909.

könnte somit annehmen, daß in den Versuchen von Croftan die Harnsäurezersetzung durch die Niere und die Leber des Menschen nicht als Wirkung eines oxydierenden Ferments aufzufassen sei, sondern daß es sich hierbei um einen anderen Prozeß, vielleicht um einen hydrolytischen Vorgang handele.

Ebenso hat Wiener[1]) die Beobachtung gemacht, daß sowohl in vivo wie in vitro die Harnsäure unter Bildung von Glykokoll zersetzt werden kann. Nun kann aber das Glykokoll durch einfache hydrolytische Spaltung der Harnsäure ohne Einwirken von Sauerstoff entstehen, nach folgender Formel zum Beispiel:

$$C_5H_4N_4O_3 + 5\,H_2O = C_2H_5NO_2 + 3\,CO_2 + 3\,NH_3.$$

Wir glauben also, daß es vorteilhafter sei, das die Harnsäure unter Allantoinbildung oxydierende Ferment gesondert zu betrachten. Wir haben diesem Fermente die Bezeichnung Urikase gegeben.

Die Urikase scheint spezifisch zu sein. Unter anderem muß man sie auch von der Xanthinoxydase unterscheiden, wie Burian[2]) und Schittenhelm[3]) gezeigt haben.

Die Forscher, die vor uns die Harnsäurezersetzung in Gegenwart von überlebenden Tiergeweben studiert haben, haben diese Frage entweder vom Standpunkte der Harnsäurezersetzung selbst oder vom Standpunkte der Zersetzungsprodukte aus betrachtet. Im Gegensatz zu unseren Vorgängern haben wir in vorstehender Arbeit hauptsächlich den Gasaustausch der isolierten Tiergewebe und das Studium der im Tierorganismus existierenden Oxydationsfermente vor Augen.

Das Studium aller bisher bekannten, in den Geweben der höheren Tiere vorkommenden Fermente bietet ziemlich große Schwierigkeiten. Die Urikase hingegen ist ein Ferment, das in gewissen Geweben in sehr großer Menge vertreten ist, dessen

---

[1]) Wiener, Über Zersetzung und Bildung der Harnsäure im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 375, 398, 1899.

[2]) Burian, Über die oxydative und die vermeintliche synthetische Bildung von Harnsäure im Rinderleberauszug. Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 497—532, 1905.

[3]) Schittenhelm, Über die Harnsäurebildung und die Harnsäurezersetzung in den Auszügen der Rinderorgane. Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 121, 1905.

Bereitung und Konservierung sehr leicht ist und das sich zu systematischen längeren Untersuchungen sehr gut eignet. Übrigens beobachtet man unter dem Einflusse der Urikase nicht nur eine Aufnahme von Sauerstoff, sondern zugleich auch eine Entwicklung von Kohlensäure. Wir haben also in der Urikase ein echtes Atmungsferment vor uns.

Bis jetzt kannte man nur die Pyrogallussäure, die unter der Einwirkung pflanzlicher Oxydasen Kohlensäure zu entwickeln vermochte.

In dieser Arbeit untersuchen wir bloß die Steigerung des Gaswechsels unter dem Einflusse der Urikase — eine Frage, die bisher von keinem der uns vorangegangenen Forscher in Betracht gezogen worden ist. Immerhin sind einige unserer dabei erzielten Resultate bereits von früheren Forschern, die sich mit dem Studium der Harnsäurezersetzung durch Tiergewebe beschäftigt hatten, konstatiert worden. Eine eingehendere bibliographische Übersicht findet sich in der grundlegenden Arbeit von Wiechowski und Wiener[1]). Wir veröffentlichen an anderer Stelle eine vollständige Bibliographie dieser Frage.[2])

Faßt man die Resultate der zahlreichen Arbeiten kurz zusammen, so ergibt sich, daß eine fermentative Harnsäurezersetzung in mehreren Geweben von vielen Forschern beobachtet worden ist.

Das Studium der bei der Harnsäurezersetzung entstehenden Produkte hat keine einheitlichen Resultate geliefert. Einige Autoren behaupten, daß sich bei der Harnsäurezerstörung Harnstoff bilde. Wiechowski[3]) findet hingegen, daß bei Sauerstoffzufuhr das urikolytische Ferment die Harnsäure quantitativ in Allantoin verwandelt.

Bisher sind nur wenige Versuche gemacht worden, mit einer gewissen Präzision den Gehalt der verschiedenen Gewebe

---

[1]) Wiechowski und Wiener, Über Eigenschaften und Darstellung des harnsäurezerstörenden Ferments der Rinderniere und der Hundeleber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 247—295, 1907.

[2]) Battelli et Stern, Recherches sur l'uricase. Travaux du laboratoire de physiologie de l'université de Genève 1908—1909.

[3]) Wiechowski, Die Produkte der fermentativen Harnsäurezersetzung durch tierische Organe. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 295, 1907.

an urikolytischen Fermenten quantitativ zu bestimmen. Die eingehendsten Untersuchungen in der Beziehung verdanken wir Croftan[1]). Er gibt an, daß unter allen daraufhin untersuchten Geweben die Leber und die Niere die bei weitem reichsten an urikolytischem Ferment seien. Die anderen Organe enthalten nur wenig oder gar kein urikolytisches Ferment.

Die Darstellung des urikolytischen Ferments ist von mehreren Forschern versucht worden (Schittenhelm, Wiener, Wiechowski und Wiener, Croftan). Die dabei angewandten Methoden sind natürlich ziemlich dieselben wie bei der Isolierung anderer Fermente und beruhen auf der Fällung durch Alkohol, verdünnte Säuren, Ammonsulfat usw.

Die Eigenschaften des urikolytischen Ferments sind namentlich von Wiechowski und Wiener[2]) in bezug auf den Einfluß höherer Temperaturen, Säuren, Alkalien, proteolytischer Fermente usw. studiert worden.

In bezug auf die Natur selbst des urikolytischen Ferments nehmen Wiechowski und Wiener an, daß es eine Oxydase sei, weil die Harnsäurezersetzung bei Sauerstoffausschluß nicht stattfindet. Doch muß man immerhin annehmen, daß die Urikolyse, wie wir bereits hervorgehoben haben, auch in Abwesenheit von Sauerstoff, wenn auch viel langsamer, vor sich gehen kann.

Der Einfluß der Harnsäure auf den respiratorischen Gaswechsel der überlebenden Tiergewebe ist vor uns nur von Lussana[3]) untersucht worden. Letzterer findet, daß die harnsauren Salze in einer Konzentration von 0,07—0,14:100 die Atmung der Leber der Säugetiere und der Vögel herabsetzen. Das harnsaure Natrium und Kalium üben auf die Atmung der Muskeln keine Wirkung aus; das harnsaure Ammonium hat nur eine schwache Wirkung; das harnsaure Calcium wirkt deutlich schädigend auf den respiratorischen Gaswechsel.

Unsere Resultate betreffend den Gaswechsel der Leber mehrerer Säugetiere stimmen natürlich mit denen von Lussana nicht überein, da unsere Methode der Urikasebestimmung auf

---

[1]) Croftan, l. c.

[2]) Wiechowski und Wiener, l. c.

[3]) Lussana, Action de l'urée, de l'acide urique, des urates et des aminoacides sur la respiration des tissus. Soc. de Biol 66, 250, 1909.

der Steigerung des Gaswechsels durch Zusatz von Harnsäure begründet ist.

II. Methode.

a) Vorversuche.

Die quantitative Bestimmung der Urikase ist in unseren Untersuchungen auf dem Gasaustausch der Gewebe mit oder ohne Harnsäurezusatz begründet. Es war also notwendig, sich zuerst zu überzeugen, ob die Harnsäure an und für sich nicht störend auf die Gewebeatmung wirkt, was natürlich die Resultate stark getrübt hätte. Lussana (l. c.) hatte in seinen Versuchen die Beobachtung gemacht, daß das harnsaure Natrium die Atmung der Leber herabsetze. Wir haben jedoch seine Resultate nicht bestätigen können.

Er findet außerdem, daß das harnsaure Natrium die Atmung der Muskeln nicht beeinflußt, was wir vollauf bestätigen konnten.

Wir haben sodann untersucht, ob die Urikase in den Geweben nach dem Tode abnimmt, und haben gefunden, daß dieselbe nicht nur nicht verschwindet, sondern vielmehr oft etwas zunimmt. Diese scheinbare Zunahme der Urikase ist wahrscheinlich die Folge der Abschwächung der in den Geweben enthaltenen hemmenden Substanzen.

Die Untersuchung und Messung der Urikase ist in einigen Geweben durch das Vorhandensein die Harnsäurezerstörung hemmender Substanzen erschwert.

Das Vorhandensein hemmender Substanzen ist bereits von Künzel und Schittenhelm[1]) bemerkt worden. Die Menge dieser hemmenden Substanzen kann bisweilen so groß sein, daß das Gewebe völlig inaktiv gegenüber der Harnsäure scheint. Wir haben immerhin die Beobachtung gemacht, daß mehrere Gewebe, die in frischem Zustande keine Urikase zu besitzen schienen, Harnsäure ziemlich energisch oxydieren, sobald sie mit Alkohol und Äther behandelt worden sind. Man könnte somit annehmen, daß die Fällung mit Alkohol und Äther die hemmenden Substanzen abschwächt oder vernichtet. Jedenfalls besitzen wir in der Alkohol-Ätherfällung ein Verfahren, das uns zu bestimmen gestattet, ob ein Gewebe, welches in frischem Zustande die Harnsäure nicht oxydiert, Urikase enthält oder nicht. Dieses Verfahren ermöglicht außerdem, die Urikase sehr lange in trockenem Zustande aufzubewahren, ein Umstand, der bei der Durchführung systematischer, untereinander vergleichbarer Untersuchungen an ein und demselben Gewebe von großer Wichtigkeit ist. Die quantitativen Bestimmungen der Harnsäure haben ergeben, daß die Zerstörung der Harnsäure durch die Steigerung der Kohlensäurebildung sehr gut gemessen werden kann. Die Zersetzung von 0,10 g Harnsäure entspricht in unseren Versuchen einer Steigerung von ungefähr

---

[1]) Künzel und Schittenhelm, Gegenseitige Beeinflussung der Fermente des Nucleinstoffwechsels. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 5, 393, 1909.

13 ccm in der Kohlensäureentwicklung. Bei der Oxydation der Harnsäure zu Allantoin beträgt die theoretische Kohlensäurebildung 13,3 ccm. Außerdem findet man, daß, welcher Art auch die Präparation der Urikase sei, man für ein gegebenes Gewicht zerstörter Harnsäure annähernd dieselben Kohlensäurewerte erhält.

Es blieb nun noch zu beweisen, daß in unseren Versuchen die Steigerung der Kohlensäurebildung ausschließlich auf Kosten der Harnsäureoxydation geschieht, d. h. durch die Einwirkung der Urikase und keineswegs durch einen anderen, z. B. hydrolytischen Vorgang bedingt ist. Wiechowski hatte bereits gesehen, daß bei Sauerstoffausschluß die Harnsäure im Laufe von 4 Stunden durch die Gewebe nicht angegriffen wird. Wir haben ebenfalls die Beobachtung gemacht, daß bei Sauerstoffabschluß die Harnsäure keine Steigerung der Kohlensäureentwicklung in den Geweben im Laufe von 3 Stunden — maximale Dauer unserer Versuche — bewirkt.

b) Definitive Methode.

Auf Grund des soeben Gesagten verfahren wir bei der Untersuchung der Urikase auf folgende Weise:

Vorhandensein der Urikase in den Geweben. Die zu untersuchenden frischen, zerriebenen Gewebe oder deren Alkohol-Ätherniederschlag mit oder ohne Harnsäurezusatz werden in Gegenwart von Sauerstoff im Thermostaten energisch geschüttelt, und am Schlusse des Versuchs die absorbierte Sauerstoffmenge sowie die entwickelte Kohlensäuremenge bestimmt. Wenn in dem die Harnsäure enthaltenden Kolben die Menge des absorbierten Sauerstoffs und namentlich die der entwickelten Kohlensäure größer ist als in dem Kontrollkolben, so schließt man daraus, daß das betreffende Gewebe Urikase enthält.

Die quantitative Bestimmung der Urikase. Die quantitative Bestimmung der Urikase ist auf der Steigerung des Gaswechsels unter dem Einflusse des Harnsäurezusatzes begründet. Hierbei könnte man die Steigerung, sei es der Sauerstoffaufnahme, sei es der Kohlensäureabgabe, in Betracht ziehen. Wir werden später sehen, daß je nach den Versuchsbedingungen der respiratorische Quotient, der durch den Harnsäurezusatz bedingt ist, bedeutende Änderungen aufweisen kann. Diese Änderungen betreffen nur die Sauerstoffaufnahme. Die Steigerung der Kohlensäureentwicklung ist für ein bestimmtes Gewicht Harnsäure eine fast konstante Größe, wie wir es bereits früher gesagt haben.

Der Urikasegehalt eines Gewebes wird also durch die Steigerung der Kohlensäurebildung bestimmt werden.

Mehrere Faktoren beeinflussen die Zersetzung der Harnsäure durch die Urikase. All diese Faktoren müssen konstant gehalten werden, wenn man untereinander vergleichbare Resultate bei der quantitativen Bestimmung der Urikase erzielen will. Unter den in Betracht kommenden Einflüssen müssen vor allem die Dauer des Schüttelns, die Temperatur des Thermostaten, die Alkalinität des Mediums, die Flüssigkeitsmenge und die Menge der hinzugesetzten Harnsäure konstant gehalten werden.

Die Menge der zersetzten Harnsäure hängt natürlich von der Dauer des Schüttelns ab. In den Versuchen zur quantitativen Bestimmung der Urikase in den verschiedenen Geweben betrug die Dauer des Schüttelns 1 Stunde.

Die Temperatur des Thermostaten betrug 38 bis 40°.

Die Menge der Flüssigkeit, in der das Gewebe suspendiert wurde, betrug 100 ccm.

Die Alkalinität des Mediums variierte je nach der Gewichtsmenge des benutzten Gewebes. Wir werden später, nach der Besprechung der Zubereitung der Gewebe, darauf zurückkommen.

Die hinzugesetzte Harnsäure muß im Überschusse sein, so daß am Schlusse des Versuchs ein Teil unzerstörter Harnsäure zurückbleibt. Andrerseits ist die Menge der hinzugesetzten Harnsäure von gewissem Einflusse auf die Größe der Harnsäurezerstörung.

Wir verwendeten immer 0,20 g Harnsäure, und am Schlusse des Versuchs müssen ungefähr 0,10 g unzerstörter Harnsäure wiedergefunden werden können, d. h. die Steigerung der Kohlensäureentwicklung unter dem Einflusse des Harnsäurezusatzes darf nicht mehr als ungefähr 13 ccm CO_2 betragen. Wenn die durch die Oxydation der Harnsäure gelieferte Kohlensäure mehr als 13 ccm beträgt, muß der Versuch unter Anwendung kleinerer Gewebemengen wiederholt werden.

Die quantitative Bestimmung der Urikase kann in gewissen frischen Geweben infolge der darin enthaltenen hemmenden Substanzen nicht exakt ausgeführt werden. Wir wissen nicht, ob diese hemmenden Substanzen in allen Geweben vorkommen.

Die Zubereitung des in frischem Zustande zu untersuchenden Gewebes ist sehr einfach. Das Gewebe wird in einer gewöhnlichen feinlöcherigen Fleischhackmaschine zerrieben, so daß der Gewebebrei in der Flüssigkeit suspendiert bleibt.

Die Zubereitung des Alkohol-Ätherniederschlages geschieht auf folgende Weise: Das vorher fein zerriebene Gewebe wird mit drei Volumen Alkohol versetzt und 5 Minuten lang verrührt. Man preßt es sodann durch ein Tuch, verrührt den Rückstand 2 Minuten lang mit dem 3- bis 4fachen Volumen Äther und preßt ihn von neuem stark durch ein Leinwandtuch. Der so erhaltene Rückstand wird in dünner Schicht auf Filtrierpapier gebreitet und während 24 Stunden an der Luft getrocknet. Nach 24 Stunden ist der Rückstand trocken genug, um zu den betreffenden Versuchen benutzt werden zu können. Der Kürze halber wollen wir dieses Präparat in der Folge als Alkoholniederschlag bezeichnen. Im Durchschnitt liefern 100 g frischer Leber ungefähr 30 g Alkoholniederschlag, während 100 g frischer Niere nur 20 g Alkoholniederschlag liefern.

Die Harnsäure wird in Form von Säure hinzugesetzt. weil in allen von uns untersuchten harnsauren Salzen stets Carbonate in mehr oder minder großer Menge vorkommen. Bei Beginn des Versuchs fügen wir die nötige NaOH-Menge hinzu, um die Harnsäure in saures harn-

saures Salz zu verwandeln, d. i. 5 ccm einer 1 % igen NaOH-Lösung, zu je 0,20 g Harnsäure. Die gewünschte Alkalinität des Mediums wird durch Hinzufügen von NH_3 erzielt. Die Menge des hinzugefügten NH_3 variierte mit der benutzten Gewebemenge. Durch Vorversuche hatten wir gefunden, daß die günstigste Alkalinität folgenden Werten entspricht: Für 30 g frischen Gewebes oder 10 g Alkoholniederschlages eine NH_3-Konzentration von 0,70 : 1000; für 15 g frischen Gewebes oder 5 g Alkoholniederschlags eine NH_3-Konzentration von 0,50 : 1000 und endlich für noch kleinere Gewichtsmengen unter 10 g frischen Gewebes und 3 g Alkoholniederschlages eine NH_3-Konzentration von 0,40 : 1000.

Dank dieser ziemlich ausgesprochenen Alkalinität, wodurch die entwickelte Kohlensäure gebunden wird, kann man die Sauerstoffaufnahme messend leicht verfolgen, wenn man den Versuchskolben mit einem Manometer in Verbindung setzt.

Die Versuchsanordnung selbst ist folgende: Der Kolben von einem Rauminhalte von 400 ccm wird völlig in das Wasser des Thermostaten versenkt. Man bringt sodann schnell die nötige NH_3-Menge, 0,20 g Harnsäure, 5 ccm NaOH à 1 % und die nötige Menge destillierten Wassers, um auf 100 ccm aufzufüllen, hinein. Der Kolben wird verschlossen und einige Minuten lang geschüttelt, damit die Flüssigkeit eine Temperatur von 40° erreiche und auch damit die hinzugesetzte Harnsäure sich löse. Man führt sodann das zu untersuchende Gewebe hinein und läßt den Kolben dann energisch schütteln. Der Kontrollversuch wird in ganz derselben Weise ausgeführt, nur ohne Zusatz von Harnsäure und der zur Lösung derselben nötigen NaOH-Menge.

Nachdem nun das Schütteln die gewünschte Zeit gedauert hat, 1 Stunde zum Beispiel, führt man in jeden Kolben 3 ccm konzentrierter Phosphorsäure ein, wodurch die Urikase sowie die Atmungsprozesse der Gewebe sofort vernichtet werden. Die Oxydation der Harnsäure hört somit auf. Die Phosphorsäure wird durch ein den Stöpsel des Kolbens durchsetzendes Rohr eingeführt, ohne den Kolben selbst zu öffnen. Man schüttelt alsdann noch 5 Minuten lang, um die Kohlensäure frei zu machen und schreitet zur Analyse der im Kolben vorhandenen Gase.

Die Analyse des Sauerstoffs und der Kohlensäure, die in der Gasatmosphäre des Kolbens vorhanden sind, wird nach den gewöhnlichen gasanalytischen Methoden ausgeführt. Es bleibt nur noch, die in der Flüssigkeit gelösten Gase zu bestimmen. Die Sauerstoffmenge der Lösung kann unbeachtet bleiben. Um die Kohlensäuremenge der Lösung zu bestimmen, wird die Flüssigkeit schnell in einen Kolben gebracht und die Kohlensäure mit Hilfe der Quecksilberpumpe extrahiert.

III. Der Urikasegehalt der verschiedenen Gewebe.

Mit Hilfe der von uns soeben beschriebenen Methode haben wir die Menge der in den verschiedenen Geweben vorhandenen Urikase zu bestimmen gesucht. Die Gewebe sind sowohl in frischem Zustande, als in Form von Alkohol-Ätherniederschlägen untersucht worden.

In diesen Versuchen sind die frischen Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres untersucht worden, zu einer Zeit also, als sie nur noch die Nebenatmung besaßen, mit Ausnahme der roten Muskeln, bei denen bekanntlich die Hauptatmung häufig recht lange andauert.

Die Gewebe sind teils aus dem Schlachthofe bezogen, teils entstammen sie den im Laboratorium durch Verbluten getöteten Tieren. Die menschlichen Gewebe stammen von zwei normalen Männern und einer normalen Frau, die durch Unfall getötet wurden. Außerdem haben wir die Gewebe mehrerer an verschiedenen Krankheiten gestorbener Personen untersucht.

In allen diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 1 Stunde. Die Temperatur war 38°.

Wir haben die Beobachtung gemacht, daß es zahlreiche Gewebe gibt, die weder in frischem Zustande noch nach vorheriger Alkohol-Äther-Behandlung merkliche Urikasemengen aufweisen. Unter diesen Geweben sind vor allem die menschlichen Gewebe zu nennen. Kein einziges menschliches Organ hat unter dem Einflusse des Harnsäurezusatzes eine Steigerung des Gasaustausches aufgewiesen. In der Beziehung stimmen also unsere Resultate mit den Angaben von Wiechowski[1]) völlig überein, der im Gegensatz zu Pfeiffer und Croftan das urikolytische Ferment in den menschlichen Geweben nicht konstatieren konnte.

Alle anderen Säugetiere, deren Gewebe wir daraufhin untersucht haben, enthalten Urikase in dem einen oder anderen Organe. Die Gewebe der Ente enthalten hingegen keine Urikase.

Unter den Geweben, in denen keine Urikase konstatiert werden konnte, sind außerdem die folgenden zu nennen: die Lunge (von Pferd, Hund und Hammel), die Milz (von Hund, Rind und Hammel), das Pankreas (von Pferd), das Gehirn (von Hund), die Muskeln (von Hund, Rind und Hammel) und die Niere (von Hammel). Das Blut der verschiedenen von uns untersuchten Tiere (Pferd, Rind, Hammel) enthält keine Urikase.

Zu den urikasehaltigen Geweben übergehend, geben wir in der Tabelle I eine Zusammenstellung der Durchschnittsmengen der durch diese Gewebe im frischen Zustande oder

---

[1]) Wiechowski, Über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im menschlichen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 185, 1909.

in Form von Alkoholätherniederschlägen entwickelten Kohlensäure. Diese Werte werden dazu dienen, den Gehalt der verschiedenen Gewebe an Urikase zu bestimmen. Jeder numerische Wert ist die Durchschnittszahl von mindestens drei Versuchsreihen, d. h. das betreffende Gewebe wurde an mindestens drei Individuen derselben Tiergattung untersucht und daraus der Mittelwert bestimmt. Aber für mehrere Gewebe ist die angegebene Kohlensäuremenge die Durchschnittszahl einer sehr großen Anzahl von Versuchsergebnissen.

Tabelle I.

Durchschnittsmenge der in den verschiedenen frischen Geweben oder deren Alkoholniederschlägen enthaltenen Urikase. Die Urikasemenge ist aus der durch Harnsäurezusatz bewirkten Steigerung der Kohlensäureentwicklung in Gegenwart von 100 g frischen Gewebes oder 30 g Alkoholniederschlages desselben berechnet. Das Schütteln dauerte in allen Versuchen 1 Stunde und die Temperatur des Thermostaten betrug 38° C.

Gewebe	Zustand des Gewebes	CO_2 in ccm
Leber von Pferd	frisch	106
idem	Alkoholniederschlag	68
Leber von Hund	frisch	81
idem	Alkoholniederschlag	53
Leber von Katze	frisch	89
idem	Alkoholniederschlag	
Leber von Kaninchen . . .	frisch	62
idem	Alkoholniederschlag	
Leber von Rind	frisch	4
idem	Alkoholniederschlag	21
Leber von Hammel	frisch	12
idem	Alkoholniederschlag	40
Niere von Pferd	frisch	18
idem	Alkoholniederschlag	37
Niere von Hund	frisch	6
idem	Alkoholniederschlag	7
Niere von Rind	frisch	142
idem	Alkoholniederschlag	94
Milz von Pferd	frisch	00
idem	Alkoholniederschlag	14
Muskel von Pferd	frisch	8
idem	Alkoholniederschlag	00

Nach den in der Tabelle I zusammengestellten Versuchsergebnissen können wir die frischen Gewebe in bezug auf ihren Urikasegehalt in absteigender Reihenfolge wie folgt ordnen: Niere des Rindes, Leber des Pferdes, Leber der Katze, Leber des Hundes, Leber des Kaninchens, Niere des Pferdes und Leber des Hammels.

Die Leber des Rindes, die Niere des Hundes und die Muskeln des Pferdes weisen nach Zusatz von Harnsäure eine nur schwache Steigerung der Kohlensäureentwicklung auf.

Wir haben bereits darauf hingewiesen, daß das Vorhandensein der Urikase durch die Wirkung der hemmenden Substanzen maskiert werden kann. Aus dem Grunde ist es unmöglich, mit Bestimmtheit zu behaupten, daß ein gegebenes Gewebe keine Urikase enthalte. Die negativen Resultate sind nicht beweisend. Außerdem ist wahrscheinlich die Menge der in den verschiedenen Geweben enthaltenen hemmenden Substanzen nicht überall die gleiche. Daraus folgt, daß wir die reelle Menge der in einem Gewebe enthaltenen Urikase nicht bestimmen können. Wir können bloß für jedes Gewebe die aus dem Zusammenwirken der Urikase und der hemmenden Substanzen resultierende aktive Urikasemenge bestimmen.

Will man die Urikasewerte durch die Menge der zerstörten Harnsäure ausdrücken, so genügt es, zu wissen, daß die Oxydation von 1 g Harnsäure 133 ccm CO_2 liefert. Wir können auf diese Weise berechnen, daß 100 g frischer Rinderniere im Laufe einer Stunde bei 38° im Durchschnitte 1,06 g Harnsäure zerstören. Wenn wir nun die Oxydation der Harnsäure durch die Niere des Rindes (100 g Rinderniere zerstören im Laufe einer Stunde 1,06 g Harnsäure) mit 100 bezeichnen, können wir folgende graphische Darstellung der durch die verschiedenen Gewebe bewirkten Harnsäureoxydation geben.

Betrachtet man die durch die Alkoholätherniederschläge der Gewebe bewirkte Oxydation der Harnsäure, so findet man, daß in den an Urikase überaus reichen Geweben, wie die Niere des Rindes, die Leber des Pferdes u. a., die Behandlung mit Alkohol und Äther eine Abschwächung resp. Verminderung des harnsäureoxydierenden Fermentes zur Folge hat. Andere Gewebe hingegen, wie die Leber des Hammels und des Rindes, die Niere des Pferdes und die Milz des Pferdes entwickeln nach

vorheriger Behandlung mit Alkohol und Äther eine bedeutend energischere Oxydationskraft der Harnsäure gegenüber als in frischem Zustande. In mehreren Fällen haben wir beobachten können, daß das frische Gewebe völlig inaktiv in bezug auf Harnsäureoxydation schien, während der Alkoholäthernieder-

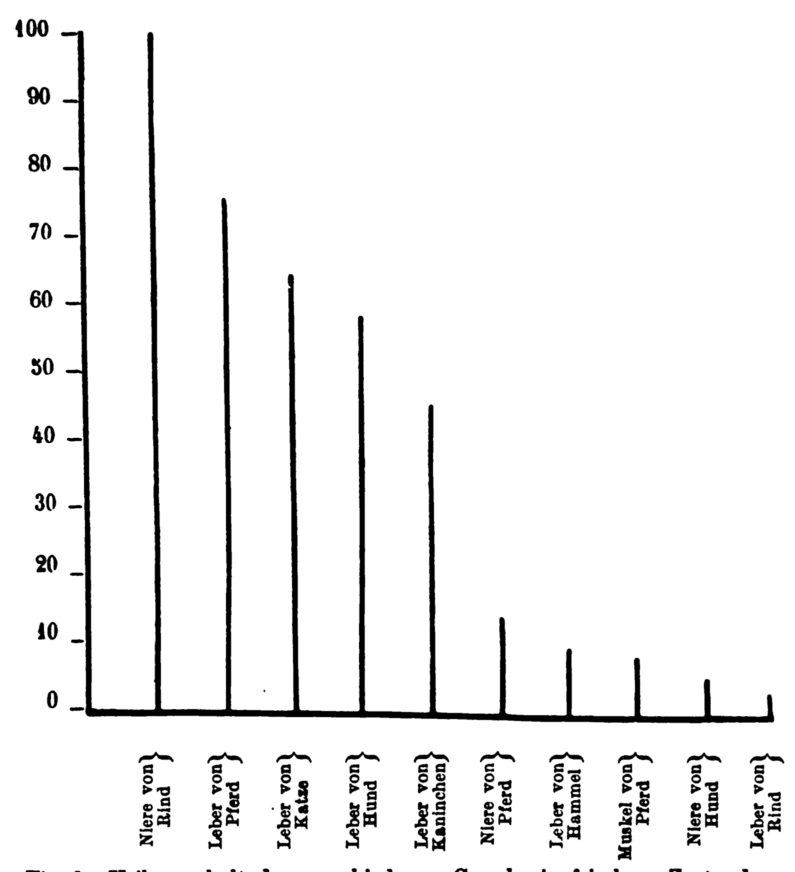


Fig. 1. Urikasegehalt der verschiedenen Gewebe in frischem Zustande.

schlag desselben die Harnsäure energisch oxydierte. Die Fällung mit Alkohol kann somit oft dazu dienen, die Gegenwart der Urikase in einem gegebenen Gewebe hervortreten zu lassen.

Wenn man nun die durch den Alkoholniederschlag der Rinderniere bewirkte Harnsäureoxydation (30 g Alkoholniederschlag der Rinderniere zerstören in 1 Stunde 0,70 g Harnsäure)

mit 100 berechnet, kann man folgende graphische Darstellung der durch die Alkoholniederschläge der verschiedenen Organe bewirkten Harnsäureoxydation geben.

Bei fast allen daraufhin untersuchten Tierarten scheint die Urikase in wahrnehmbarer Menge nur in der Leber und der

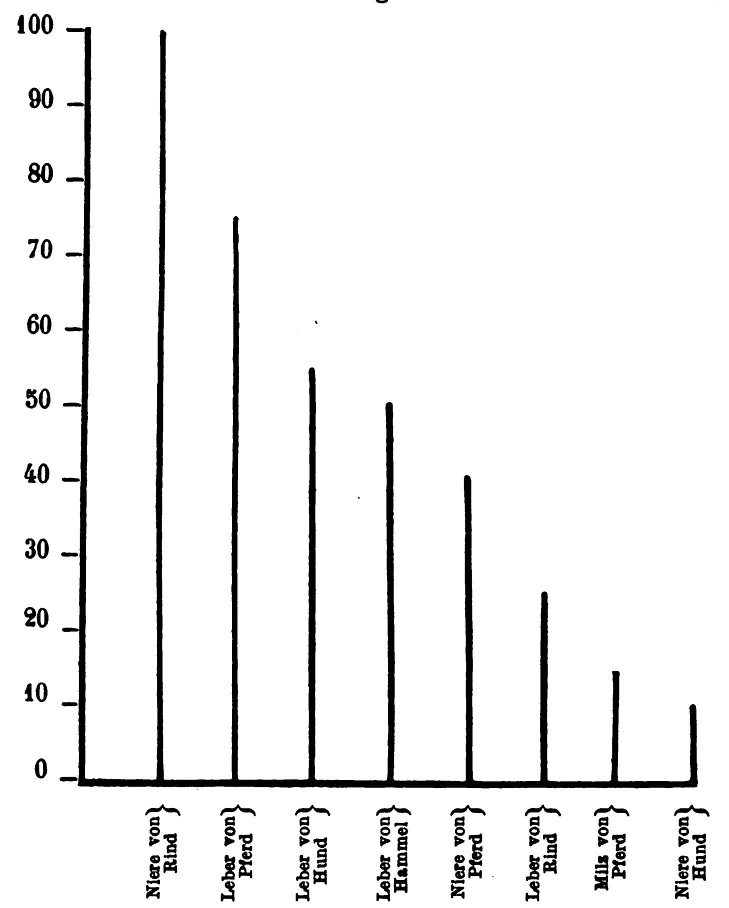


Fig. 2. Urikasegehalt der Alkoholniederschläge der verschiedenen Gewebe.

Niere zu existieren. Doch können wir in der Beziehung den von Croftan gemachten Unterschied im Verhalten der Fleisch- und Pflanzenfresser nicht bestätigen. — Wir fanden, daß beim Pferde, dem Hammel und dem Hunde die Leber das an Urikase bei weitem reichste Organ ist, während beim Rinde die Niere in dieser Beziehung den ersten Platz einnimmt.

IV. Herstellung der Urikase.

Wie wir bereits früher gesagt haben, haben mehrere Forscher versucht, das urikolytische Ferment aus den Geweben zu isolieren. Wir haben zu dem Zwecke die Fällung mit Alkohol benutzt, ein Verfahren, welches sehr gute Resultate liefert, aber nur unter der Bedingung, daß der Kontakt mit dem Alkohol von kurzer Dauer sei — ein Umstand, der von den verschiedenen Forschern nicht in Betracht gezogen worden war. — Als Ausgangsmaterial für die Herstellung der Urikase haben wir größtenteils die Niere des Rindes und die Leber des Pferdes benutzt.

Bei der Bereitung des Fermentes kann man auf dreierlei Art verfahren. Man kann sich begnügen, das fein zerriebene Gewebe direkt mit Alkohol zu behandeln, ein Verfahren, das wir unter dem Namen Alkoholätherniederschlag bei der Beschreibung unserer Versuchstechnik bereits beschrieben haben. Wir haben gesehen, daß unter diesen Bedingungen der Verlust an Urikase nicht sehr groß ist, aber es ist augenscheinlich, daß das auf diese Weise erhaltene Gewebepulver große Mengen inerter Substanzen besitzt. Bei dem soeben angegebenen Verfahren ist eine längere Einwirkung des Alkohols weniger schädigend als in den folgenden Methoden, wo der Alkohol nicht direkt dem Gewebebrei, sondern einem wässerigen Auszuge desselben zugesetzt wird. Gewöhnlich bleibt die Urikase in den soeben beschriebenen Präparaten wochen- und monatelang intakt. Manchmal hingegen erfährt das Ferment bereits nach wenigen Tagen eine Abschwächung.

Wir haben versucht, die auf diese Weise durch Alkoholätherfällung erhaltene Urikase durch eine zweite Fällung mit Alkohol zu reinigen. Zu dem Zwecke fügt man zu 100 g des Alkoholätherniederschlags, der zuvor zu Pulver fein zermahlen worden ist, 500 ccm einer NH_3-Lösung in einer Konzentration von 1:2500 und läßt das Ganze unter wiederholtem Umrühren 4 Stunden lang bei Zimmertemperatur. Die klare Flüssigkeit wird abgehoben, mit 2,5 Volumen Alkohol versetzt und schnell zentrifugiert. Der Niederschlag wird schnell mit 2 oder 3 Volumen Äther gewaschen und von neuem zentrifugiert. Der gewaschene Niederschlag wird zwischen Filterpapier ausgepreßt und an der Luft getrocknet. Der Kontakt des Alkohols mit der zu fällenden Flüssigkeit muß so kurz wie möglich sein, andernfalls die Urikase fast vollständig zerstört wird. Aus dem Grunde muß man zentrifugieren; das Filtrieren würde zu lange dauern. Man fällt also immer nur die Menge Flüssigkeit, die unverzüglich zentrifugiert werden kann.

Bei gutem Zentrifugieren erhält man einen recht kompakten Bodensatz nach 4 bis 5 Minuten. Nach Hinzufügen von Äther ist das Zentrifugieren bereits nach 1 Minute beendet. Man erhält auf diese Weise ein reineres und aktiveres Urikasepräparat als die erste Alkoholätherfällung. 2 g einer solchen gereinigten Urikase zersetzen in 1 Stunde 0,20 g Harnsäure in einer Luftatmosphäre. Unglücklicherweise ist der Ertrag ein sehr geringer. Um einige Gramm einer solchen Urikase zu

erhalten, muß man sehr große Mengen frischen Gewebes benutzen. So erhält man z. B. aus 1 kg Pferdeleber nicht mehr als 10 g gereinigter Urikase. Durch die zweite Alkoholfällung ist also die Urikase bedeutend abgeschwächt worden.

Aus dem Grunde empfiehlt es sich, ein anderes Verfahren anzuwenden, das uns ermöglicht ein fast ebenso aktives Präparat wie das soeben beschriebene zu erhalten. Dieses Präparat besitzt außerdem viel weniger inerter Substanzen als die anfangs beschriebene Alkoholätherfällung des Gewebebreies.

Man verfährt hierbei auf folgende Weise: Das Gewebe wird fein zerrieben, mit 2,5 Volumen leicht alkalisch gemachten Wassers versetzt und während 15 Minuten umgerührt. Das Ganze wird durch ein Tuch gepreßt und zentrifugiert. Man erhält auf diese Weise eine trübe Flüssigkeit, zu der man nun 2,5 Volumen Alkohol hinzusetzt. Im übrigen verfährt man wie bei der Bereitung der gereinigten Urikase, d. h. man zentrifugiert sehr schnell, wäscht den Bodensatz mit Äther und trocknet ihn an der Luft. Je länger die Dauer der Einwirkung des Alkohols auf die Flüssigkeit ist, um so mehr wird die Urikase abgeschwächt. Dieses Verfahren liefert sehr gute Resultate bei Benutzung der Leber des Pferdes oder der Niere des Rindes als Ausgangsmaterial.

2 bis 3 g eines solchen Präparates können in 1 Stunde 0,20 g Harnsäure zersetzen, wenn der Versuch in Gegenwart von Luft ausgeführt wird, in reinem Sauerstoff ist die Menge der zersetzten Harnsäure 2 bis 3 mal so groß. Der Ertrag ist hierbei bedeutend größer als bei Anwendung der wiederholten Alkoholfällung (gereinigte Urikase). 1 kg frischen Gewebes liefert ungefähr 60 g Fermentpulver. Die Leber des Hundes eignet sich nicht gut zu diesem Verfahren.

Die in der Leber des Pferdes und der Niere des Rindes enthaltene Urikase läßt sich leicht mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung extrahieren. Hingegen bleibt die Urikase der Hundeleber zum weitaus größten Teil an den Zellen oder Zelltrümmern haften, so daß der wässerige Auszug nur geringe Quantitäten dieses Ferments enthält. Die Urikase läßt sich sehr gut im schwach alkalisch reagierenden wässerigen Auszuge aufbewahren, 24 Stunden und noch länger.

V. Der respiratorische Quotient, der durch Harnsäurezusatz zu den frischen Geweben und deren Alkoholniederschlägen bedingt ist.

In dem Kapitel III haben wir hauptsächlich die durch die Harnsäuroxydation bewirkte Kohlensäurebildung in Betracht gezogen. Wir wollen nun auch die bei diesem Prozeß erfolgende Sauerstoffaufnahme näher untersuchen.

Der respiratorische Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$, der durch die Harnsäureoxydation bedingt wird, variiert je nach den Bedingungen, unter denen das zu untersuchende Gewebe benutzt wird. Von diesem Gesichtspunkte aus

haben wir den respiratorischen Quotienten in Gegenwart von frischen Geweben und den Alkoholniederschlägen derselben, sowie von den wässerigen Gewebeauszügen und den Alkoholniederschlägen derselben untersucht.

Die frischen Gewebe können unmittelbar nach dem Tode des Tieres benutzt werden, zu einer Zeit also, wo sie noch die Hauptatmung besitzen. In der folgenden Tabelle werden sie als sehr frische Gewebe bezeichnet werden. Sie können auch mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres, nachdem sie bereits die Hauptatmung verloren und nur noch die Nebenatmung aufweisen, verwandt werdeu. Wir werden sie als frische Gewebe bezeichnen.

Der erste Alkoholniederschlag des frischen Gewebes kann ein oder zwei Tage nach seiner Bereitung benutzt werden — und besitzt in dem Falle die Nebenatmung in mehr oder weniger starkem Grade. — In der Tabelle wird dieser Alkoholniederschlag als frischer Alkoholniederschlag bezeichnet. Der Alkoholniederschlag kann aber auch längere Zeit nach der Bereitung benutzt werden.

In dem Falle ist die Nebenatmung sehr gering oder sie fehlt fast ganz. Wir wollen diesen Niederschlag als alten Alkoholniederschlag bezeichnen.

Die wässerigen Auszüge der Gewebe wurden gewöhnlich kurze Zeit — einige Minuten bis wenige Stunden — nach der Bereitung benutzt. Die Alkoholniederschläge dieser Auszüge wurden 1 bis 2 Tage nach der Bereitung verwandt. Die wässerigen Auszüge sowie die Alkoholniederschläge sind nach dem im entsprechenden Kapitel beschriebenen Verfahren hergestellt worden.

Die Versuche sind mit den an Urikase reichhaltigsten Organen ausgeführt worden. Der respiratorische Quotient ist aus der durch den Harnsäurezusatz bewirkten Steigerung des Gaswechsels berechnet worden.

Wir bringen hier der Kürze halber nur einige typische Versuche, deren Ergebnisse durch zahlreiche andere Versuche bestätigt sind.

In allen hierher gehörigen Versuchen wurden 30 g Leber der verschiedenen Tierarten, 30 g Niere des Pferdes, 20 g Niere des Rindes, 10 g Alkoholniederschlag der Leber verschiedener Tiere und 5 g Alkoholniederschlag der Niere des Rindes, 70 ccm wässerigen Auszuges entsprechend 30 g frischen Gewebes und 3 g des Alkoholniederschlages dieser Auszüge verwandt.

Tabelle II.

Der durch Harnsäurezusatz bewirkte respiratorische Quotient. In allen Versuchen beträgt die Dauer des Schüttelns 1 Stunde und die Temperatur des Thermostaten 38° C.

AN = Alkoholniederschlag, E = Extrakt.

Gewebe oder Alkoholniederschlag	Harnsäure in g	O_2 in ccm	CO_2 in ccm	Respiratorischer Quotient der Harnsäure
I. Leber von Hund, sehr frisch .	00	36	42	
idem	0,20	48	71	1,7
II. Leber von Kaninchen, sehr frisch	00	32	40	
idem	0,20	49	67	1,59
III. Leber von Hund, frisch	00	17	21	
idem	0,20	26	38	1,89
IV. Leber von Hund, frisch	00	21	20	
idem	0,20	27	43	3.83
V. Leber von Pferd, frisch	00	13	17	
idem	0,20	24	41	2,18
VI. Leber von Pferd, frisch	00	22	21	
idem	0,20	26	38	4,25
VII. Leber von Kaninchen, frisch .	00	9	12	
idem	0,20	17	28	2,0
VIII. Niere von Rind, frisch	00	11	16	
idem	0,20	26	45	1,93
IX. Niere von Pferd, frisch	00	13	28	
idem	0,20	20	43	2,14
X. Leber von Hund, frischer AN .	00	12	9	
idem	0,20	29	34	1,47
XI. Leber von Pferd, frischer AN .	00	11	8	
idem	0,20	24	30	1,69
XII. Leber von Hund, alter AN . .	00	4	7	
idem	0,20	21	26	1,23
XIII. Leber von Pferd, alter AN . .	00	5	5	
idem	0,20	29	31	1,08
XIV. Leber von Hammel, alter AN .	00	7	4	
idem	0,20	16	15	1,22
XV. Leber von Rind, alter AN . .	00	3	4	
idem	0,20	17	19	1,07
XVI. Niere von Rind, frischer AN .	00	5	6	
idem	0,20	19	31	1,78
XVII. Niere von Rind, alter AN . . .	00	3	4	
idem	0,20	18	26	1,46
XVIII. Niere von Pferd, frischer AN .	00	6	9	
idem	0,20	19	30	1,61
XIX. Niere von Pferd, alter AN . .	00	3	7	
idem	0,20	11	19	1,50
XX. Leber von Pferd, E	00	4	6	
idem	0,20	13	20	1,55
XXI. Leber von Pferd, E	00	3	8	
idem	0,20	16	25	1,30
XXII. Niere von Pferd, E	00	6	12	
idem	0,20	22	37	1,56
XXIII. Leber von Pferd, AN des E . .	00	3	5	
idem	0,20	20	26	1,23
XXIV. Niere von Rind, AN des E . .	00	2	4	
idem	0,20	14	20	1,33

Bei der näheren Betrachtung der in der Tabelle II zusammengestellten Versuchsergebnisse bemerkt man sofort, daß die Werte des respiratorischen Quotienten unter dem Einflusse der Harnsäure sich je nach der Natur des Gewebes ändern.

Im allgemeinen kann man sagen, daß der durch Harnsäurezusatz bedingte respiratorische Quotient sich dem Werte 2 nähert, wenn man frisches Gewebe verwendet. Bei Anwendung von Alkoholniederschlägen erhält man einen respiratorischen Quotienten, der niedriger als 2 ist und der sich der Einheit nähert in dem Maße, wie der Alkoholniederschlag weniger frisch ist, namentlich wenn es sich um Leber handelt.

Wie ist dieser Unterschied im Verhalten der frischen Gewebe und der Alkoholniederschläge derselben zu erklären? Es ist leicht zu verstehen, warum bei Anwendung frischer Gewebe der respiratorische Quotient, der durch den Harnsäurezusatz bedingt ist, den Wert 2 hat. In der Tat entspricht dieser Quotient der Oxydation der Harnsäure zu Allantoin. Schwerer ist es allerdings, die Herabsetzung des respiratorischen Quotienten bei Verwendung der Alkoholniederschläge der Gewebe zu ver stehen. Zur Erklärung könnte man hier annehmen, daß durch die Harnsäureoxydation ein indirekter Oxydationsprozeß ausgelöst werde, und zwar in folgender Weise: Während der Oxydation der Harnsäure wird der molekulare Luftsauerstoff aktiviert. In Gegenwart von leicht oxydablen Substanzen wird nun dieser aktivierte Sauerstoff diese Substanzen oxydieren, im entgegengesetzten Falle wird er nur die Harnsäure oxydieren. Wenn man nun frisches Gewebe verwendet, können die darin enthaltenen leicht oxydablen Substanzen bereits durch den Prozeß der Nebenatmung oxydiert werden und infolgedessen wird der bei der Harnsäureoxydation aktivierte Sauerstoff ausschließlich dazu dienen, die Harnsäure zu oxydieren. Der durch den Harnsäurezusatz bedingte respiratorische Quotient wird alse in diesem Falle gleich 2 sein.

Der frische Alkoholniederschlag weist eine deutliche, wenn auch etwas schwächere Nebenatmung auf. Nur ein Teil der leicht oxydablen Substanzen kann also durch den Prozeß der Nebenatmung oxydiert werden, während der andere Teil indirekt durch den bei der Harnsäureoxydation aktivierten Sauerstoff oxydiert werden wird. Infolgedessen wird der durch den Harnsäurezusatz bewirkte respiratorische Quotient einen zwischen 1 und 2 liegenden Wert aufweisen.

Der seit längerer Zeit (mehrere Tage oder Wochen) bereitete Alkoholniederschlag weist gewöhnlich eine kaum nennenswerte oder gar keine Nebenatmung auf. In diesem Falle wird der durch die Harnsäureoxydation aktivierte Sauerstoff teils zur Oxydation der Harnsäure und teils zur Oxydation der leicht oxydablen Substanzen dienen. Der respiratorische Quotient wird sich dem Werte 1 nähern. Wir haben übrigens die Beobchtung gemacht, daß in einigen Versuchen mit frischer Pferdeleber der durch den Harnsäurezusatz bedingte respiratorische Quotient nur wenig mehr als 1 betrug. In diesen hier zitierten Fällen war die Nebenatmung der Gewebe eine minimale; das frische Gewebe verhielt

sich also in diesen Fällen wie der gewöhnliche Alkoholniederschlag desselben.

Wenn die zur Erklärung des respiratorischen Quotienten von uns gemachte Vermutung sich als richtig erweisen sollte, hätten wir hier einen interessanten Fall von indirekter Oxydation vor uns. Die indirekte Oxydation ist in der Chemie vielfach beobachtet worden. Wir wollen als Beispiel an die von van't Hoff und Jörissen bei der Oxydation des Phosphors, des Benzylaldehyds, des schwefligsauren Natriums usw. erzielten Resultate erinnern. Wenn die Oxydation dieser Körper in Gegenwart von anderen oxydablen Substanzen sich vollzieht, so ist die Menge des dabei absorbierten Sauerstoffs doppelt so groß wie die zur Oxydation der betreffenden Körper verbrauchte. Die Hälfte des aktivierten Sauerstoffs oxydiert den Phosphor, den Benzylaldehyd, das schwefligsaure Natrium usw., während die andere Hälfte die anderen oxydablen Substanzen oxydiert. Wir wollen hier nicht auf die verschiedenen Theorien oder Hypothesen, die zur Erklärung der indirekten Oxydation aufgestellt sind (Ionentheorie, Peroxydtheorie u. a.) eingehen.

Bei Verwendung des alten Alkoholniederschlags der Rinderniere beträgt der durch Harnsäure bedingte respiratorische Quotient nie weniger als 1,5. Diesen Unterschied im Verhalten des Alkoholniederschlags der Rinderniere und des Alkoholniederschlags der Leber könnte man durch die Annahme erklären, daß die Niere weniger oxydable Substanzen enthalte als die Leber, oder auch daß die darin enthaltenen Substanzen bei ihrer Oxydation CO_2 liefern, was bei den in dem Alkoholniederschlage der Leber enthaltenen Substanzen nicht der Fall ist.

In einigen allerdings seltenen Fällen (Versuch IV und VI) ist der durch Harnsäurezusatz bedingte respiratorische Quotient sehr hoch und kann den Wert 4 erreichen. Dies ist der Fall, wenn die Nebenatmung im betreffenden Gewebe sehr energisch ist. Eine zufriedenstellende Erklärung dieser Erscheinung können wir einstweilen noch nicht geben.

Der Zusatz von Harnsäure zu den wässerigen Auszügen der Niere oder der Leber bewirkt einen respiratorischen Quotienten von 1,5 anstatt von 2, wie es der Fall beim frischen Gewebe ist. Diese Herabsetzung des respiratorischen Quotienten erklärt sich durch die Tatsache, daß die Nebenatmung des Auszugs schwach ist und daß daher ein Teil der darin enthaltenen oxydablen Substanzen durch die indirekte Oxydation oxydiert wird.

Der Alkoholniederschlag der wässerigen Auszüge verhält sich ebenso wie der Alkoholniederschlag des ganzen Gewebes.

In den Fällen, wo das Gewebe gleich nach dem Tode des Tieres benutzt wurde (Versuch I und II), ist der durch Harnsäurezusatz bewirkte respiratorische Quotient niedriger als 2, wie es sonst bei frischen Geweben der Fall ist. Man könnte diesen relativ niedrigen respiratorischen Quotienten dadurch erklären, daß die Harnsäure die Hauptatmung des Gewebes (Leber von Hund und Kaninchen) begünstige, indem sie analog dem phosphorsauren Natrium die Alkalinität des Mediums reguliert.

VI. Der respiratorische Quotient der Nucleoproteidfällung in Gegenwart von Harnsäure.

Wiener (28) hatte bereits die Beobachtung gemacht, daß das urikolytische Ferment in der Nucleoproteidfällung, die man durch Behandeln der Rinderniere mit Essigsäure erhält, enthalten ist. Croftan (10) findet anderseits, daß die Zersetzung der Harnsäure durch das Zusammenwirken dreier Faktoren bedingt sei: eines Nucleoproteids, einer durch Alkohol fällbaren Albumose (?) und einer Salzlösung. Wir haben Croftans Resultate nicht bestätigen können, doch müssen wir hinzufügen, daß unsere Versuche nicht unter denselben Bedingungen ausgeführt sind, wie die von Croftan.

Wir haben die Nucleoproteide teils aus dem wässerigen Auszuge frischer Gewebe, teils aus dem ammoniakalischen Auszuge der Alkoholniederschläge der Organe bereitet. Wir verfahren auf folgende Weise: Das fein zerriebene frische Gewebe wird mit 2,5 Volumen Wasser versetzt, 15 Minuten lang verrührt und darauf durch ein Tuch gepreßt und zentrifugiert. Die so erhaltene Flüssigkeit wird mit Essigsäure in einer Konzentration von 1,5: 1000 versetzt und schnell zentrifugiert. Man erhält auf diese Weise eine klare Flüssigkeit und einen Niederschlag. Die Flüssigkeit wird abgehoben und schnell mit einer Ammoniaklösung neutralisiert. Der Bodensatz wird mit einigen Volumen 0,1%iger Essigsäure gewaschen und schnell zentrifugiert, und darauf in stark verdünntem Ammoniak gelöst.

Der zu feinem Pulver zermahlene Alkoholniederschlag wird mit dem 10fachen Volumen 0,05%iger Ammoniaklösung versetzt und unter häufigem Schütteln 4 Stunden lang bei Zimmertemperatur gelassen. Die Flüssigkeit wird sodann abgehoben, durch Essigsäure neutralisiert und mit Essigsäure bis zu einer Gesamtkonzentration von 1,5: 1000 versetzt. Man zentrifugiert rasch und verfährt im übrigen wie bei der Fällung der Nucleoproteide aus dem wässerigen Auszuge der frischen Gewebe.

Diese Versuche sind mit der Leber des Pferdes und der Niere des Rindes ausgeführt worden. Wir haben einerseits die Nucleoproteidfällung und die Flüssigkeit getrennt, anderseits die beiden Teile vereint untersucht.

In einigen Versuchen haben wir die Nucleoproteidfällung oder auch den flüssigen Teil der Siedehitze 10 Minuten lang ausgesetzt.

Die Säure zerstört schnell das urikolytische Ferment, wie es bereits Wiechowski und Wiener (26) hervorgehoben haben. Aus diesem Grunde weist die Urikase nach Behandeln des Präparates mit Essigsäure eine starke Verminderung ihrer harnsäurezerstörenden Fähigkeit auf. In mehreren Fällen ist diese Verminderung so stark, daß die Steigerung des Gaswechsels nach Hinzufügen von Harnsäure kaum bemerkbar ist. Die Resultate, die auf diese Weise erzielt werden, sind nicht beweisend.

In der Tabelle III stellen wir einige typische Vesuche, deren Resultate durch zahlreiche andere Versuche bestätigt sind, zusammen.

Tabelle III.

Gaswechsel, bewirkt durch die in der Essigsäurefällung der Auszüge frischer Gewebe oder deren Alkoholniederschläge enthaltene Urikase.

E = Extrakt. AN = Alkoholniederschlag.

Gewebe	Harnsäure in g	O_2 in ccm	CO_2 in ccm	Respiratorischer Quotient der Harnsäure
Frische Niere von Rind, Nucleoproteidfällung	00	3	5	
idem	0,20	13	24	1,9
Flüssiger Teil	00	1	7	
idem	0,20	2	10	
Nucleoproteidfällung + flüssiger Teil	00	5	13	
idem + idem	0,20	15	31	1,8
Frische Leber von Pferd, Nucleoproteidfällung	00	3	3	
idem	0,20	12	23	2,22
Flüssiger Teil	00	2	4	
idem	0,20	3	6	
Nukleoproteidfällung + flüssiger Teil	00	6	8	
idem + idem	0,20	16	27	1,9
E aus AN der Leber von Pferd, Nucleoproteidfällung	00	1	3	
idem	0,20	7	14	1,83
Flüssiger Teil	00	0	4	
idem	0,20	1	5	
Nucleoproteidfällung + flüssiger Teil	00	1	6	
idem + idem	0,20	12	19	1,18
E aus AN der Leber von Pferd, Nucleoproteidfällung	00	0	2	
idem	0,20	5	12	2
Flüssiger Teil	00	0	3	
idem	0,20	2	4	
Nucleoproteidfällung + flüssiger Teil	00	1	5	
idem + idem	0,20	10	16	1,22
Nucleoproteidfällung + gekochter flüssiger Teil	0,20	7	16	1,82
Gekochte Nucleoproteidfällung + flüssiger Teil	0,20	2	6	

Aus der Betrachtung der in der Tabelle III zusammengestellten Versuchsresultate ergibt sich, daß die Urikase in der Nucleoproteidfällung enthalten ist, während der flüssige Teil gar keine oder nur Spuren von Urikase enthält.

Der durch den Harnsäurezusatz bedingte respiratorische Quotient der Nucleoproteidfällung nähert sich dem Werte 2. Dieser Quotient wird

herabgesetzt, wenn man zur Nucleoproteidfällung den flüssigen Teil hinzufügt. Die Herabsetzung des respiratorischen Quotienten ist viel stärker, wenn man an Stelle des Extraktes des frischen Gewebes den Auszug aus dem Alkoholniederschlage desselben verwendet. Wir sehen hier eine treue Wiederholung der in dem vorigen Kapitel beobachteten Erscheinung, d. h. die indirekte Oxydation oxydabler Substanzen bei der Oxydation der Harnsäure durch die Urikase, die namentlich bei Verwendung alter Alkoholniederschläge der Pferdeleber deutlich zu Tage tritt. Die in der Tabelle III gruppierten Versuche zeigen, daß diese oxydablen Substanzen durch Essigsäure nicht gefällt werden, sondern in der Lösung bleiben.

Die Siedehitze zerstört natürlich die in der Nucleoproteidfällung enthaltene Urikase. Der flüssige Teil verliert unter denselben Bedingungen teilweise das Vermögen, den respiratorischen Quotienten herabzusetzen. Man könnte die Annahme machen, daß unter dem Einflusse der Hitze die oxydablen Substanzen einige Änderung erfahren, aber wir haben keine diesbezüglichen näheren Untersuchungen angestellt.

Selbstverständlich darf die Tatsache, daß die Urikase in der Nucleoproteidfällung enthalten ist, durchaus nicht als Beweis der Nucleoproteidnatur dieses Fermentes aufgefaßt werden. Spitzer[1]) nimmt an, daß die Oxydationsfermente Nucleoproteide seien und gewisse Autoren behaupten, daß alle Fermente zu den Nucleoproteiden gehören. Wir wollen hier diese Frage nicht näher erörtern. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird die Urikase bei der Fällung der Nucleoproteide mitgerissen.

VII. Einfluß der Temperatur auf die Intensität der Harnsäureoxydation durch die Urikase.

Wir haben eine Reihe von Versuchen gemacht, um den Einfluß der verschiedenen Temperaturen auf die Oxydationsgeschwindigkeit der Harnsäure durch die urikasehaltigen Gewebe zu untersuchen. Zu diesen Versuchen haben wir teils frische Gewebe, teils Alkohol-Ätherfällungen derselben benutzt. Die Alkohol-Ätherfällungen sind nach der in Kapitel II angegebenen Methode bereitet, d. h. das zerriebene Gewebe wurde ohne jede vorherige Behandlung mit Alkohol extrahiert und darauf mit Äther gewaschen und an der Luft getrocknet. Wir haben zu diesen Versuchen nur die an Urikase reichsten Gewebe, d. i. die Leber des Pferdes und die Niere des Rindes, verwandt. Die in den Flaschen enthaltene Flüssigkeit wurde vorerst auf die im Thermostaten herrschende Temperatur erwärmt, und dann erst das zu untersuchende Gewebe hineingetan. Man wartete dann noch ungefähr 3 Minuten, bevor man mit dem Schütteln begann.

In diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns nur 30 Minuten. Wir haben die Versuchsdauer abgekürzt, weil bei höheren Temperaturen (55 bis 60°) die Urikase mehr oder weniger schnell, wie wir weiter unten sehen werden, geschädigt wird. Würde man also den Versuch länger

[1]) Spitzer, Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Pflügers Archv 67, 615 bis 656, 1897.

dauern lassen, so würde die begünstigende Wirkung der höheren Temperaturen durch die mit der Zeit eintretende Abschwächung der Urikase verdeckt werden.

In der Tabelle IV stellen wir nun einige typische Versuche, die sich auf die Pferdeleber beziehen, zusammen. Wir haben in allen hierher gehörigen Versuchen stets 30 g frischer Pferdeleber und 10 g des getrockneten Alkoholniederschlags desselben Gewebes benutzt. Die frische Rinderniere sowie der getrocknete Alkoholniederschlag derselben geben ganz dieselben Resultate. Um stets einen Überschuß von Harnsäure zu haben, fügten wir in allen diesen Versuchen 0,40 g Harnsäure hinzu.

Tabelle IV.

Einfluß der Temperatur auf die Oxydationsgeschwindigkeit der Harnsäure durch die Urikase. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten.

AN = Alkoholniederschlag.

Gewebe	Harnsäure g	Temperatur	O_2 ccm	CO_2 ccm
I. frische Leber von Pferd	00	12°	6	8
idem	0,40	12°	7	9
idem	00	20°	9	10
idem	0,40	20°	13	18
idem	00	30°	12	13
idem	0,40	30°	20	31
idem	00	40°	13	15
idem	0,40	40°	25	40
idem	00	50°	15	18
idem	0,40	50°	28	53
idem	00	55°	14	18
idem	0,40	55°	27	48
idem	00	60°	15	19
idem	0,40	60°	23	35
idem	00	65°	15	19
idem	0,40	65°	19	28
idem	00	70°	14	18
idem	0,40	70°	13	19
II. AN. der Leber von Pferd . . .	00	10°	1	3
idem	0,40	10°	2	4
idem	00	20°	2	4
idem	0,40	20°	5	7
idem	00	30°	3	5
idem	0,40	30°	11	14
idem	00	40°	4	6
idem	0,40	40°	18	22
idem	00	50°	4	7
idem	0,40	50°	23	29
idem	00	55°	5	5
idem	0,40	55°	18	24
idem	00	60°	5	6
idem	0,40	60°	9	12
idem	00	65°	6	5
idem	0,40	65°	5	5

Auf Grund der in der Tabelle IV zusammengestellten Werte, die sich auf die durch die Harnsäureoxydation bei verschiedenen Temperaturen bewirkte Kohlensäureentwicklung beziehen, haben wir zwei Kurven konstruiert, deren eine sich auf die frische Pferdeleber (Fig. 3) und die andere auf den Alkoholätherniederschlag (Fig. 4) derselben bezieht.

Aus den bei Anwendung der Rinderniere erzielten Kohlensäurewerten lassen sich ganz analoge Kurven konstruieren.

Die Kurven 3 und 4 lassen deutlich ersehen, daß das Optimum der Urikasewirkung nicht bei 40°, sondern bei einer weit höheren Temperatur liegt, und zwar scheint die günstigste Temperatur zwischen

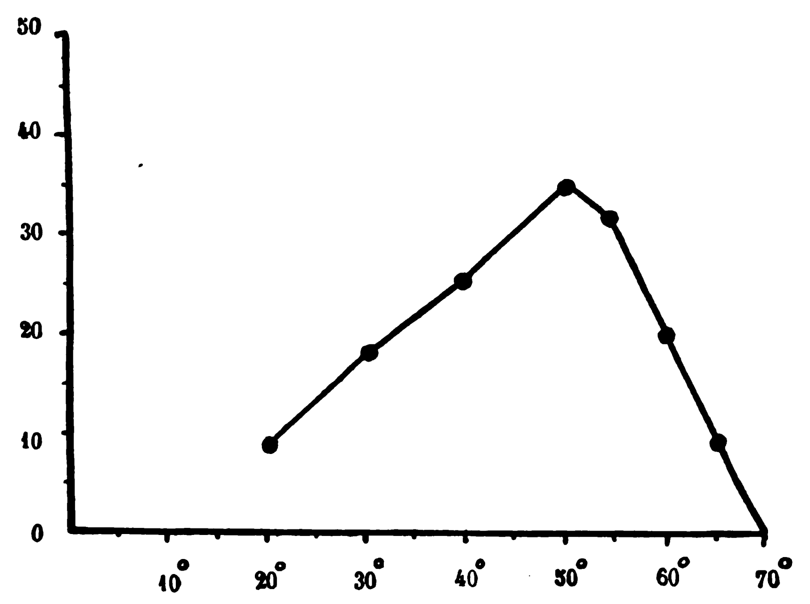


Fig. 3. Kohlensäuremengen in ccm (Ordinaten), bedingt durch die Oxydation der Harnsäure bei verschiedenen Temperaturen (Abscisse) in Gegenwart von frischer Pferdeleber (30 g) im Laufe von 30 Minuten.

50° und 55° zu sein. Die frische Pferdeleber, sowie die Alkoholniederschläge der Pferdeleber und der Rinderniere haben bei einer Temperatur von 50° bessere Resultate geliefert als bei 55°, während die frische Rinderniere bei 55° eine größere Oxydationskraft aufweist als bei 50°.

Die optimale Wirkung ziemlich hoher Temperaturen in der Wirkungsweise der Urikase hat viel Ähnlichkeit mit den für andere oxydierende Fermente bekannten Tatsachen. So haben beispielsweise Bordier[1]) und später Jacoby[2]) beobachtet, daß die Oxydation des Salicylaldehyds

[1]) Bordier, Recherches expérimentales sur le mécanisme des oxydations de l'organisme. Thèse de Toulouse 1896, 93.

[2]) Jacoby, Über die Oxydationsfermente der Leber. Virchows Archiv, 157, 235 bis 280, 1899.

durch tierische Gewebe bei 60° sich schneller vollzieht als bei niedrigeren Temperaturen. — Desgleichen hat Chodat[1]) für die pflanzliche Tyrosinase beobachtet, daß bei 50° die Tätigkeit derselben mit zunehmender Temperatur steigt; bei 65° wird sie völlig zerstört.

Wie aus den Kurven 3 und 4 ersichtlich ist, steigt die Oxydation der Harnsäure mit zunehmender Temperatur in gerader Linie an.

Oberhalb 55° nimmt die Wirkung der Urikase sehr schnell ab, weil bei diesen höheren Temperaturen das Ferment abgeschwächt oder zerstört wird. In dieser Beziehung bemerkt man einen Unterschied zwischen dem frischen Gewebe und dem Alkoholniederschlage desselben. Während das

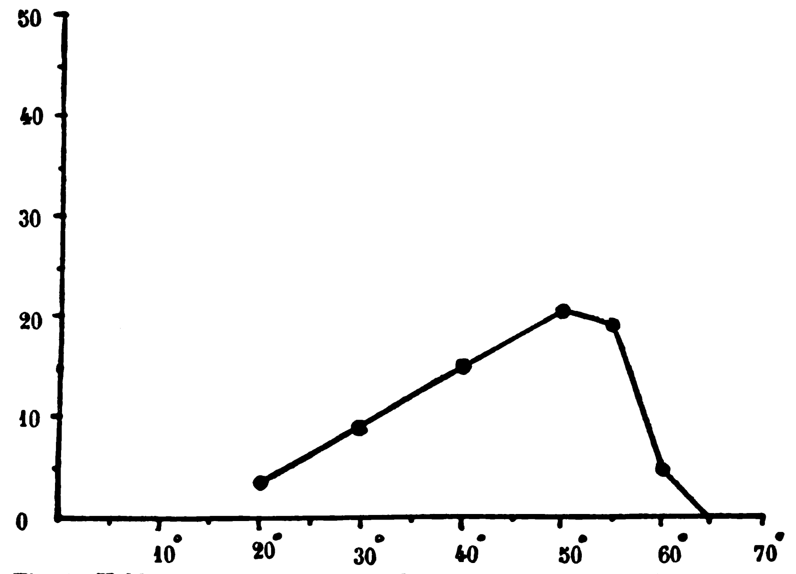


Fig. 4. Kohlensäuremengen in ccm (Ordinaten), bewirkt durch die Oxydation der Harnsäure bei verschiedenen Temperaturen (Abszisse) in Gegenwart von Alkoholniederschlägen der Pferdeleber (10 g) im Laufe von 30 Minuten.

frische Gewebe bei 65° die Harnsäure, wenn auch in geringem Grade, noch zu oxydieren vermag, ist der Alkoholniederschlag bei dieser Temperatur völlig wirkungslos. Die Urikase des frischen Gewebes scheint somit gegen höhere Temperaturen widerstandsfähiger zu sein als die in Pulverform dargestellte Urikase des Alkoholniederschlags.

Als Ergänzung zu den soeben beschriebenen Untersuchungen haben wir eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Widerstandsfähigkeit der Urikase gegen die Einwirkung mehr oder weniger hoher Temperaturen zu prüfen. Mehrere Autoren (Wiechowski und Wiener, Schittenhelm) hatten bereits darauf hingewiesen, daß das urikolytische Ferment

---

[1]) Chodat, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Arch. des Sciences phys. et natur., 24, 172, 1907.

bei einer Temperatur von 80° bis 100° zerstört wird, aber die untere Temperaturgrenze, bei der das Ferment abgeschwächt oder zerstört wird, ist nicht bestimmt worden.

Wir verfuhren auf folgende Weise: Zu je 30 g frischen Gewebes fügt man 70 ccm Wasser und zu je 10 g Alkoholniederschlages 90 ccm Wasser hinzu. Das Gemisch wird durch Ammoniak leicht alkalisch gemacht und in ein Wasserbad von gewünschter konstanter Temperatur gebracht. Nachdem das Gemisch die gewünschte Temperatur erreicht hat, läßt man dasselbe bei dieser Temperatur 15 Minuten lang stehen, kühlt es alsdann ab und fügt die nötige Ammoniakmenge, um eine Gesamtkonzentration von 1:1500 zu erzielen, sowie Harnsäure hinzu. Der Kontrollversuch wird in derselben Weise, nur ohne Harnsäurezusatz, ausgeführt. Im übrigen verfährt man wie gewöhnlich, d. h. die die Reaktionsgemische enthaltenden Flaschen werden bei 40° energisch geschüttelt.

Wir haben hier die Beobachtung machen können, daß die in den frischen Geweben enthaltene Urikase der Einwirkung höherer Temperaturen besser widersteht als das im Alkoholätherniederschlage der Gewebe enthaltene Ferment. In der Tat weist die Urikase der Pferdeleber oder der Rinderniere keine Abschwächung auf, wenn das betreffende Gewebe im frischen Zustande 15 Minuten lang der Einwirkung einer Temperatur von 55° ausgesetzt wird; ein Erhitzen auf 60° schwächt die Urikase nur unbedeutend ab, während eine Temperatur von 65° das Ferment zum großen Teil vernichtet und ein Erhitzen auf 70° die Urikase völlig zerstört.

Verwendet man zu den Versuchen an Stelle der frischen Gewebe die Alkoholätherniederschläge derselben, so beobachtet man, daß die in denselben enthaltene Urikase bei einer Temperatur von 50° bereits abgeschwächt und bei 65° völlig zerstört wird.

Im allgemeinen kann man also sagen, daß die Urikase in schwach alkalischem Medium durch Erhitzen auf 65 bis 70° während 15 Minuten völlig vernichtet wird.

Vergleicht man nun diese Resultate mit den in der Tabelle IV zusammengestellten, so sieht man, daß die Wirkung der Urikase mit zunehmender Temperatur steigt bis zu einem Punkte, wo das Ferment selbst geschädigt zu werden anfängt. Aus dem Grunde ist das Optimum der Temperatur für die Alkoholniederschläge der Gewebe niedriger (50°) als für die frischen Gewebe (55°). In der Tat wird die Urikase des Alkoholniederschlages bei einer niedrigeren Temperatur geschädigt als die Urikase des frischen Gewebes.

VIII. Einfluß der Versuchsdauer auf die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase.

Mehrere Forscher haben den Einfluß der Versuchsdauer auf die Harnsäurezerstörung durch das urikolytische Ferment untersucht. Wiechowski und Wiener[1]) fanden, daß die Urikolyse mit der Versuchs-

[1]) Wiechowski und Wiener, l. c.

dauer konstant zunimmt. Künzel und Schittenhelm[1]) finden hingegen, daß die Harnsäurezerstörung im Anfange bedeutend stärker sei.

In unseren Versuchen haben wir beobachtet, daß die durch die Harnsäureoxydation bewirkte Kohlensäureausscheidung in den ersten 2 Stunden konstant zunimmt, unter der Bedingung natürlich, daß die Harnsäuremenge im Vergleich zur Urikase im Überschusse sei. Wenn man also z. B. zu 15 g frischer Pferdeleber 0,50 g Harnsäure setzt, so ist die Kohlensäureausscheidung während der ersten 2 Stunden proportional der Dauer des Schüttelns. Die Harnsäureoxydation nimmt alsdann allmählich ab, sei es infolge der Konzentrationsverminderung der Harnsäure, sei es infolge einer mit der Zeit eintretenden Abschwächung der Urikase.

Wiechowski und Wiener[2]) haben bereits bemerkt, daß das urikolytische Ferment bei der Reaktion keine Verminderung zu erfahren scheint. Unsere Versuchsergebnisse bestätigen vollauf diese Angabe.

IX. Einfluß der Sauerstoffkonzentration der Gasatmosphäre auf die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase.

Die in den vorhergehenden Kapiteln besprochenen Versuche sind in einer gewöhnlichen Luftatmosphäre ausgeführt worden. Wir haben eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu prüfen, ob in einer Atmosphäre reinen Sauerstoffs andere Resultate erzielt werden können. Um die die Reaktionsgemische enthaltenden Flaschen mit Sauerstoff zu füllen, verfahren wir in folgender Weise. Nachdem die Flüssigkeit, das zu untersuchende Gewebe und die Harnsäure in die Flaschen hineingetan waren, wird darin mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe das Vakuum rasch hergestellt. Man verbindet alsdann die Flaschen mit einem Sauerstoffbehälter und verfährt im übrigen wie gewöhnlich.

Wir haben gefunden, daß die Oxydation der Harnsäure viel schneller im reinen Sauerstoff als in einer Luftatmosphäre vor sich geht. Im Durchschnitt ist die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase in reinem Sauerstoff doppelt so groß wie in gewöhnlicher Luftatmosphäre. Der respiratorische Quotient erleidet aber hierbei keine Veränderung.

X. Einfluß der Peroxyde auf die Wirkung der Urikase.

Nach der Theorie von Chodat und Bach[3]) sind die oxydierenden Fermente eine Verbindung zweier Teile: einer Oxygenase und einer Peroxydase. Die Oxygenase ist nach dieser Theorie ein Peroxydferment und kann durch irgendein gewöhn-

---

[1]) Künzel und Schittenhelm, Über den zeitlichen Ablauf der Urikolyse. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 5, 389, 1909.

[2]) Wiechowski und Wiener, l. c.

[3]) Chodat und Bach, Zerlegung der sog. Oxydasen in Oxygenasen und Peroxydasen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 607, 1903.

liches Peroxyd ersetzt werden; die Peroxydase soll das Peroxyd aktivieren. Die Tyrosinase scheint in der Beziehung eine Ausnahme zu machen, wie Chodat[1]) gezeigt hat. In einer letzthin erschienenen Arbeit vertritt Bach[2]) die Ansicht, daß die Tyrosinase durch das Peroxyd-Peroxydase-System nicht ersetzt werden kann wie die anderen Oxydasen, weil bei der Oxydation des Tyrosins es sich um die Oxydation eines weniger labilen Wasserstoffatoms handelt als bei der Oxydation der Phenole, der aromatischen Amine usw.

Die Untersuchungen von Chodat und Bach beschränken sich auf die pflanzlichen Oxydasen. Unter den Oxydationsfermenten tierischen Ursprungs haben wir in einer früheren Arbeit[3]) die in den Tiergeweben enthaltene Peroxydase, welche in Gegenwart von H_2O_2 oder Äthylhydroperoxyd Ameisensäure oxydiert, studiert.

Unseres Wissens ist bis jetzt kein Versuch gemacht worden, das Vorhandensein der Oxygenase in den Tiergeweben zu studieren.

Wir haben eine große Anzahl von Versuchen gemacht, um zu sehen, ob die Urikase in zwei Elemente getrennt werden kann. Die Fällung mit Alkohol und mit Essigsäure hat keine befriedigenden Resultate gegeben. Wir haben alsdann versucht, den Einfluß der Peroxyde auf die Wirkung der Urikase zu studieren. Die in der Leber und der Niere in großer Menge enthaltene Katalase macht den Gebrauch von H_2O_2 unmöglich, und aus dem Grunde haben wir, wie wir es bereits in unserer früheren Arbeit über die tierischen Peroxydasen getan, das Äthylhydroperoxyd benutzt.

Das Äthylhydroperoxyd wurde in einer Konzentration von 0,5 — 2 : 1000 verwandt. In unseren Versuchen fügten wir dem zu untersuchenden Gewebe 100 ccm Flüssigkeit und 0,5 bis 0,20 g Äthylhydroperoxyd hinzu.

0,10 g Äthylhydroperoxyd enthält 18 ccm aktiven Sauerstoffs, d. i. eine Sauerstoffmenge, die 0,27 g Harnsäure zu Allantoin oxydieren könnte.

---

[1]) Chodat, Journ. Suisse chim. pharm. 1906, Nr. 46—48.

[2]) Bach, Zur Kenntnis der Tyrosinase. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 594, 1909.

[3]) Battelli und Stern, Über die Peroxydasen der Tiergewebe. Diese Zeitschr. 13, 44—88, 1908.

Wir haben folgendes beobachtet:

Das harnsaure Natrium entwickelt unter dem Einflusse von H_2O_2 oder von Äthylhydroperoxyd bei 40° im Laufe 1 Stunde 4 bis 5 ccm CO_2.

Das Hinzufügen von Äthylhydroperoxyd zu frischer Pferdeleber oder Rinderniere übt keine Wirkung auf die Schnelligkeit der Harnsäureoxydation durch die in den Geweben enthaltenen Urikase aus. Die das Äthylhydroperoxyd enthaltende Reaktionsmischung entwickelt 4 bis 5 ccm Kohlensäure mehr als im Kontrollversuche, entsprechend der durch die Einwirkung des Äthylhydroperoxyds auf die Harnsäure gelieferten Kohlensäuremenge. Die Sauerstoffaufnahme zeigt gewöhnlich keine merkbare Veränderung. In einigen Fällen wies sie eine leichte Verminderung auf.

Bei Ausschluß von atmosphärischem Sauerstoff entwickelt die Urikase in Gegenwart von Äthylhydroperoxyd und von Harnsäure nur geringe Kohlensäuremengen. Die in diesem Falle entwickelte Kohlensäuremenge entspricht der durch die Einwirkung des Äthylhydroperoxyds auf die Harnsäure gebildeten. Die direkte Messung der Harnsäure führt zum gleichen Resultat. Das Hinzufügen der Urikase zum Äthylhydroperoxyd verstärkt durchaus nicht die Harnsäurezerstörung.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die überraschende Tatsache, daß die Urikase, die so energisch den molekularen Sauerstoff aktiviert, den aktiven, im Äthylhydroperoxyd enthaltenen Sauerstoff nicht oder in geringem Grade ausnutzen kann. Dies beruht nicht auf einer toxischen Wirkung des Äthylhydroperoxyds, da, wie wir soeben gesehen haben, die Gegenwart von Äthylhydroperoxyd die Wirkung der Urikase nicht beeinträchtigt.

Die Urikase kann den an Hämoglobin gebundenen Sauerstoff benutzen, wie wir in mehreren zu dem Zwecke angestellten Versuchen mit Hunde- und Rinderblut konstatieren konnten. Der größte Teil des an Hämoglobin gebundenen Sauerstoffs ist zur Oxydation der Harnsäure benutzt worden.

Da nun die natürliche intakte Urikase den aktiven Sauerstoff des Äthylhydroperoxyds zur Oxydation der Harnsäure nicht verwenden kann, war es a priori wenig wahrscheinlich, daß die auf irgendeine Weise abgeschwächte Urikase durch die Gegenwart des Peroxyds aktiviert werden könne. Nichts-

destoweniger haben wir mehrere Versuche in dieser Richtung unternommen.

Man hätte ja annehmen können, daß ein Teil der Urikase — die hypothetische Oxygenase — der größeren Labilität wegen teilweise vernichtet sei, während die dazu gehörige Peroxydase nicht geschädigt sei. Wir haben das Äthylhydroperoxyd dem Alkohol-Ätherniederschlag der an Urikase reichen Gewebe oder der Nucleoproteidfällung, oder dem durch Essigsäure nicht fällbaren flüssigen Teile derselben, oder auch den frischen Geweben, deren Urikase durch ein 15 Minuten langes Erhitzen auf 62° abgeschwächt worden war, hinzugefügt. In keinem dieser Fälle hat die Gegenwart von Äthylhydroperoxyd die Oxydation der Harnsäure durch die abgeschwächte Urikase beschleunigt.

Aus all diesen Versuchen geht hervor, daß es uns unmöglich war, die Existenz einer Peroxydase in der Konstitution der Urikase nachzuweisen. Falls eine solche Peroxydase existiert, so kann sie jedenfalls durch ein Peroxyd nicht aktiviert werden, wie es auch für die Tyrosinase nach den Untersuchungen von Bach der Fall zu sein scheint. Andererseits haben wir gezeigt, daß in der Leber von Pferd, Hund, Rind usw. eine Peroxydase existiert, die in Gegenwart von Äthylhydroperoxyd oder von H_2O_2 Ameisensäure energisch oxydiert. Die Oxydation dieser Säure findet in Abwesenheit eines Peroxyds nicht statt. In der Leber des Pferdes oder des Hundes finden wir also ein Gemenge von Urikase und Ameisensäure oxydierender Peroxydase.

Setzt man nun voraus, daß die Urikase, nach der Theorie von Chodat und Bach, ein System Peroxyd-Peroxydase darstellt, so müßte man annehmen, daß das Peroxydferment der Urikase die Peroxydase, welche Ameisensäure oxydiert, nicht aktivieren könne. Wir enthalten uns absichtlich jeder weiteren Hypothese diesen speziellen Punkt betreffend.

XI. Allgemeine Betrachtungen.

Mehrere Betrachtungen allgemeiner Natur sind bereits an den verschiedenen entsprechenden Kapiteln angestellt worden. Wir kommen hier auf dieselben nicht mehr zurück.

Die Rolle der Urikase im lebenden Tierorganismus ist so augenscheinlich, daß es überflüssig ist, dieselbe hier zu betonen.

Wie Wiechowski bereits bemerkt hat, findet man die Gicht bei keinem daraufhin untersuchten Säugetier. Eine Ausnahme bildet der Mensch, in dessen Geweben auch kein harnsäureoxydierendes Ferment (Urikase) gefunden wurde und dessen Harn kein Allantoin enthält.

Die an den überlebenden Geweben gemachten Beobachtungen stimmen sehr gut mit den Untersuchungen von Burian und Schur[1]) überein, die gefunden hatten, daß der Hund nur $^1/_{30}$ bis $^1/_{20}$, das Kaninchen $^1/_6$ der gebildeten Harnsäure ausscheidet, während beim Menschen ungefähr die Hälfte der Harnsäure im Harn wiedergefunden wird.

Mehrere Gewebe enthalten Substanzen, welche die Wirkung der Urikase in vitro hemmen. Wir können aber nicht mit Sicherheit behaupten, daß diese hemmende Wirkung auch im lebenden Organismus stattfinde. Man könnte in der Tat annehmen, daß diese hemmenden Substanzen und die Urikase im lebenden Organismus voneinander getrennt bleiben.

Die Wirkung der Urikase kann mit den bei der Nebenatmung sich abspielenden Vorgängen verglichen werden. Wie wir bereits gezeigt haben, weisen gewisse Tiergewebe zwei voneinander ganz unabhängige Arten oder Formen von Atmungsprozessen auf: die Hauptatmung und die Nebenatmung. Die Hauptatmung ist an die Vitalität der Zellen gebunden und bezweckt hauptsächlich, die in den verschiedenen im Organismus verbrennbaren Substanzen enthaltene chemische Energie in Freiheit zu setzen. Wir haben die Hypothese aufgestellt, daß die Nebenatmung, welche alle Charaktere eines fermentativen Prozesses aufweist, hauptsächlich eine Schutz- oder Verteidigungsrolle spiele, indem sie durch Oxydation die für den Organismus schädlichen Substanzen zerstört. Nun ist die Urikase der bis jetzt am besten bekannte Typus solcher oxydierenden Schutzfermente, die im Tierorganismus existieren. Bekanntlich haben bereits mehrere Autoren die Idee vertreten, daß die Oxydationsfermente, sowohl pflanzlichen als tierischen Ursprunges im Organismus hauptsächlich eine Schutzrolle spielen.

Die Urikase bietet ein besonderes Interesse auch aus dem

---

[1]) Burian und Schur, Über die Stellung der Purinkörper im menschlichen Stoffwechsel. Pflügers Archiv 87, 239, 1901.

Grunde, daß unter ihrem Einflusse nicht nur Sauerstoff aufgenommen wird, sondern zugleich auch eine Kohlensäureentwicklung stattfindet. Man könnte solche oxydierenden Fermente als Atmungsfermente bezeichnen.

Die Urikase weist auch den großen Vorzug auf, in vitro auf dieselben Substanzen einzuwirken wie im lebenden Tierorganismus. Die bisher bestehenden Oxydationsfermente wirkten gewöhnlich auf Körper ein, die im lebenden Tierorganismus normalerweise nicht oder kaum vorkommen, wie die Amine, Phenole, Aldehyde, Gayak usw. Man konnte also mit einigem Rechte annehmen, daß man es hauptsächlich mit künstlichen Reaktionen, die keine Analogie mit den im Organismus sich abspielenden Vorgängen aufweisen, zu tun habe.

Da nun die verschiedenen oxydierenden Fermente einen ganz spezifischen Charakter aufweisen, läßt sich aus der Oxydation einer bestimmten Substanz kaum der Schluß ziehen, daß andere im Organismus wirklich vorkommende Substanzen durch die Wirkung eines gegebenen Fermentes oxydiert werden könnten. Was die Tyrosinase anbetrifft, deren Reaktion in der Beziehung zufriedenstellender ist, so findet man sie nur in einigen pathologischen Fällen; sie hat also keine allgemeine Bedeutung.

Wir wollen noch die interessante Tatsache hervorheben, daß man bei der durch die Urikase bewirkten Oxydation der Harnsäure unter gewissen Bedingungen eine Sauerstoffaufnahme beobachtet, die bedeutend größer, manchmal sogar doppelt so groß ist, als die zur Oxydation der Harnsäure erforderliche Sauerstoffmenge ist. Wir haben es hier wahrscheinlich mit einer indirekten Oxydation gewisser oxydabler Substanzen von unbekannter Natur, die in den Geweben enthalten sind, zu tun. Wir haben darüber im entsprechenden Kapitel gesprochen.

Zum Schlusse wollen wir noch bemerken, daß zwischen dem Urikasegehalt und dem Reichtum an ameisensäureoxydierender Peroxydase eines Gewebes kein Parallelismus besteht. So enthält zum Beispiel die Rinderniere, das an Urikase reichste Organ, nur wenig Peroxydase.

XII. Experimentelle Ergebnisse.

1. Die Urikase ist ein Ferment, welches die Harnsäure unter Aufnahme von Sauerstoff und Entwicklung von Kohlensäure zu Allantoin oxydiert. Unter günstigen Versuchsbedingungen vollzieht sich die Harnsäureoxydation sehr schnell.

2. Die Urikase kann quantitativ leicht durch Messung der durch die Harnsäureoxydation bewirkten Steigerung der Kohlensäureentwicklung bestimmt werden.

3. Die quantitative Bestimmung der Urikase ist in mehreren Geweben durch die Gegenwart hemmender Substanzen, die bisweilen die Existenz selbst der Urikase verdecken können, erschwert. Durch Behandeln der betreffenden Gewebe mit Alkohol kann die Wirkung dieser hemmenden Substanzen zum Teil aufgehoben werden. Mehrere Gewebe oxydieren nach vorangegangener Alkoholbehandlung die Harnsäure viel energischer als in frischem Zustande.

4. Die Urikasemenge nimmt in den Geweben mehrere Stunden, selbst mehrere Tage nach dem Tode der Tiere nicht ab; sie scheint vielmehr oft zuzunehmen.

5. Die Urikase findet sich in großer Menge namentlich in der Leber und der Niere der verschiedenen Tiere. Alle daraufhin untersuchten Säugetiere besitzen die Urikase in dem einen oder andern Organe oder in beiden zugleich. Nur der Mensch bildet eine Ausnahme. Kein einziges menschliches Gewebe enthält eine nennenswerte Menge Urikase. Die Gewebe der Ente sind ebenfalls frei von Urikase.

6. In frischem Zustande betrachtet, können die Gewebe in bezug auf ihre harnsäurezersetzende Fähigkeit in absteigender Reihenfolge wie folgt geordnet werden: Niere von Rind, Leber von Pferd, Leber von Katze, Leber von Hund, Leber von Kaninchen, Niere von Pferd, Leber von Hammel. Die Leber von Rind und die Niere von Hund besitzen nur äußerst geringe harnsäureoxydierende Fähigkeiten. Die anderen Gewebe haben keine merkbare Wirkung.

7. In Form von Alkoholniederschlägen können die verschiedenen Gewebe in bezug auf ihre harnsäureoxydierende Wirkung in absteigender Linie wie folgt geordnet werden: Niere

von Rind, Leber von Pferd, Leber von Hund, Leber von Hammel, Niere von Pferd, Leber von Rind, Milz von Pferd, Niere von Hund.

8. Die Urikase kann in Pulverform dargestellt werden. Zu dem Zwecke wird das frische Gewebe oder der wässerige Auszug desselben schnell mit Alkohol behandelt. Die so bereitete Urikase hält sich sehr lange.

9. Der durch die Harnsäureoxydation bedingte respiratorische Quotient $\frac{CO_2}{C_2}$ ist gewöhnlich 2, wenn frisches Gewebe benutzt wird, wie es die Umwandlung der Harnsäure zu Allantoin verlangt.

10. Bei Benutzung der Alkoholniederschläge sinkt der respiratorische Quotient und nähert sich der Einheit in dem Maße, wie der Alkoholniederschlag weniger frisch ist. In diesem Falle handelt es sich wahrscheinlich um eine indirekte Oxydation von Substanzen, die im Alkoholniederschlage enthalten sind und die im frischen Gewebe durch die dem Gewebe eigene Nebenatmung oxydiert werden.

11. Die Urikase wird bei der Fällung der Nucleoproteide durch Essigsäure mitgerissen. Die Oxydation der Harnsäure durch diese Fällung weist einen respiratorischen Quotienten vom Werte 2 auf. Fügt man dieser Nucleoproteidfällung den von Nucleoproteiden freien flüssigen Teil hinzu, so sinkt der respiratorische Quotient infolge vermehrter Sauerstoffaufnahme.

12. Das Optimum der Temperatur der Urikase ist zwischen 50° und 55° je nach den Geweben und den Präparaten. Die Wirkung der Urikase steigt mit zunehmender Temperatur in gerader Linie an bis zu einem Grade, wo das Ferment abgeschwächt zu werden anfängt. Die untere Temperaturgrenze, bei der die Urikase geschädigt wird, liegt für die in den Alkoholniederschlägen enthaltene Urikase niedriger als für die in den frischen Geweben enthaltene.

13. Die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase vollzieht sich konstant, proportional zu der Versuchsdauer während der ersten zwei Stunden. Das Ferment scheint bei der Reaktion nicht vermindert zu werden, wenn die Versuchsdauer nicht zu groß ist.

14. Die Wirkung der Urikase ist in reinem Sauerstoff viel energischer als in einer gewöhnlichen Luftatmosphäre.

15. Das Äthylhydroperoxyd hat keinen merklichen Einfluß auf die Oxydation der Harnsäure durch die natürliche oder auf irgend eine Weise abgeschwächte Urikase. Bei Ausschluß von molekularem Sauerstoff bewirkt die Urikase in Gegenwart von Äthylhydroperoxyd keine Oxydation der Harnsäure. Die Urikase nutzt also den aktiven Sauerstoff des Peroxyds nicht aus. Sie kann hingegen den molekularen im Oxyhämoglobin enthaltenen Sauerstoff völlig ausnutzen.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

VI. Mitteilung.

Über ein neues Verfahren der fraktionierten Extraktion der Gehirnlipoide.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 27. Mai 1909.)

Die Geschichte der Gehirnchemie ist zugleich die Erklärung für die Mißerfolge und für die sehr differenten Resultate der verschiedenen Forscher auf demselben Gebiet. Man findet eine ausführliche Schilderung der älteren Arbeiten in Thudichums Buch „Über die chemische Konstitution des Gehirnes des Menschen und der Tiere, Tübingen 1901". Eine kürzere Darstellung der bisherigen Resultate ist nachzulesen in der Gehirnchemie von Sigmund Fränkel, in den Ergebnissen der Physiologie herausgegeben von Asher und Spiro, 8. Jahrgang 1909, Seite 212.

Vauquelin war der erste, welcher Gehirne mit heißem Weingeist extrahierte. Aus den heißen weingeistigen Auszügen schied sich eine weiße Substanz ab, Vauquelins „weiße Materie", die aus einem flockigen und aus einem schuppigen Anteile bestand. Diese weiße Materie erkannte Vauquelin bereits als phosphorhaltig, und zwar war der Phosphor als Phosphorsäure, also in oxydierter Form, in dieser Verbindung enthalten. Aus den Mutterlaugen der weißen Materie schied sich noch beim Einengen des Alkohols zuerst eine butterige, dann eine ölige Materie ab. Später behandelte Couërbe das Gehirn vorerst mit Äther und dann mit Alkohol, und dabei erhielt er, durch Extraktion der in siedendem Alkohol löslichen weißen

Absätze mit Äther, als ätherunlöslichen Rückstand die nun reinere weiße Materie Vauquelins, die er Cerebrot nannte. Dieses Cerebrot ist viele Jahre später in Deutschland in keineswegs reinerer Form wieder als „Protagon“ aufgetaucht. Die weißen Niederschläge wurden dann von Fremy einer eingehenden Untersuchung unterzogen und als stickstoff-, phosphor- und schwefelhaltig erkannt.

Alle späteren Untersucher haben insbesondere in der Weise gearbeitet, daß sie das Gehirn entweder zuerst mit Äther erschöpft und dann mit heißem Alkohol extrahiert haben oder in umgekehrter Weise, indem das Gehirn vorerst mit Alkohol extrahiert wurde und man die aus der alkoholischen Lösung sich abscheidenden weißen Bodensätze mit Äther erschöpfte. Über diese Methodik hinaus ist man im wesentlichen nicht gelangt. Selbst Thudichum, dem wir die größten Fortschritte in der Aufarbeitung der Gehirnauszüge verdanken, ist im wesentlichen von der alten französischen Methodik nicht abgewichen, indem er vorerst das Gehirn mit kaltem Alkohol härtete, hierauf mit kaltem Äther das Gehirnpulver erschöpfte, hernach mit siedendem Äther und das mit kaltem und heißem Äther erschöpfte Hirnpulver mit siedendem Weingeist vollkommen auszog, oder den umgekehrten Weg einschlug, indem er gleich mit Weingeist arbeitete, und die weingeistigen Auszüge, resp. die Absätze daraus mit Äther kalt und heiß erschöpfte. Erst diese zwei großen Anteile, die ätherlöslichen und die nur alkohollöslichen Substanzen wurden beim Thudichumschen Verfahren einer weiteren eingehenden Trennung unterzogen, bei welcher er mit Vorliebe Chlorcadmium, Chlorplatin, sowie Bleiacetat und Ammoniak verwendete.

Bei den großen Widersprüchen zwischen den einzelnen Forschern auf diesem Gebiete und bei der von den Forschern selbst geschilderten fast unüberwindlichen Schwierigkeit zu einheitlich reinen Präparaten zu gelangen, erschien es uns sehr wahrscheinlich, als wir Vorversuche über die Aufarbeitung und Trennung der Gehirnlipoide anstellten, daß die Schwierigkeit vielleicht darin besteht, daß das einmal aus dem Gehirn isolierte Substanzengemenge sich weiter sehr schwer trennen und entmischen läßt und daß insbesondere darauf sich all die Schwierigkeiten zurückführen lassen, von denen die Forscher auf diesem

Gebiet so viel zu berichten wissen. Anderseits fiel es uns auf, daß das Gehirn überaus große Mengen von Cholesterin enthält und daß dieses Cholesterin besonders aus der Gruppe der ungesättigten Verbindungen sich nur äußerst schwer nach den von den verschiedenen Autoren und besonders Thudichum angewendeten Verfahren isolieren lasse. Das Cholesterin aber verändert ungemein die Löslichkeitsverhältnisse der verschiedenen Gehirnsubstanzen in organischen Solvenzien, solange es mit diesen gemischt ist; gleichsam als amalgamierendes Mittel erschwert es sehr die Trennung der gesättigten und ungesättigten Verbindungen. Wir haben daher bei der Ausarbeitung des neuen Verfahrens, vorzüglich darauf Wert gelegt, zuerst das Cholesterin möglichst aus dem Gehirn zu entfernen. Weiter haben wir bemerkt, daß der als Hauptlösungsmittel verwendete Äther, wenn er auch frisch destilliert wird, ungemein stark oxydierend und verändernd auf die ungesättigten Verbindungen einwirkt. Wir haben es daher vermieden, Äther bei der Darstellung und Reinigung dieser Substanzen zu verwenden, und haben es vorgezogen, mit leicht siedendem Petroläther diese Substanzen aufzuarbeiten, dem die stark oxydierenden Eigenschaften des Äthers fehlen.

Unser Verfahren, nach dem die in den folgenden Abhandlungen zu beschreibenden Substanzen im wesentlichen dargestellt sind, beruht in der fraktionierten Extraktion der Gehirnsubstanzen aus dem trockenen Gehirn mit verschiedenen Lösungsmitteln, nachdem das erste Lösungsmittel fast ganz das Cholesterin entfernt hat. Man erhält durch dieses Verfahren eine glatte Trennung der Hauptgruppen und kann die weitere Entmischung der Substanzen mit Verwendung von bloßen Lösungsmitteln noch um ein beträchtliches weitertreiben, bevor man zur Anwendung von anorganischen Fällungsmitteln und zur Reinigung einzelner Präparate über ihre wässerige Lösung schreitet. Dieses Verfahren gestattet gleichzeitig, dasselbe Gehirnmaterial auf die verschiedensten Bestandteile aufzuarbeiten und ermöglicht es, neue Substanzen zu isolieren, die bisher zusammen mit der weißen Materie ein untrennbares Gemenge bildeten. Es gestattet ferner, nicht nur einen kleinen Anteil rein zu erhalten, sondern die Hauptmasse jeder Substanz, so daß wir mit Erfolg zur Hydrolyse der reinen Substanzen schreiten konnten und so neue charakteristische Bestandteile der Gehirnstoffe fanden.

Es hat schon vor uns Rosenheim[1]) mit kaltem Aceton das sehr störende Cholesterin aus dem Gehirn entfernt und dann mit siedendem Aceton die weiße Materie aus dem Gehirn extrahiert. Wir haben diesen Weg durchaus nicht zweckmäßig gefunden und in wesentlich anderer Weise gearbeitet, da wir im gleichen Prozesse und aus dem gleichen Material die ungesättigten Phosphatide darstellen können.

Die Details der Aufarbeitung und Reinigung der einzelnen Substanzen werden von Fall zu Fall in den betreffenden Mitteilungen veröffentlicht werden. Wir machen aber insbesondere jetzt schon auf den von vielen Forschern übersehenen Umstand aufmerksam, der einzig und allein bis jetzt Thudichum nicht entgangen ist, daß die Gehirnphosphatide mit großer Hartnäckigkeit in alle organischen Lösungsmittel reichlich Aschenbestandteile mitschleppen, und daß einzelne dieser Gehirnphosphatide, wie wir zeigen werden, salzartige Verbindungen organischer Substanzen mit verschiedenen Metallen sind, und daß auch dieser Umstand eine Quelle zahlreicher analytischer Irrtümer war.

Für kleinere Versuche arbeiteten wir menschliches Gehirn und auch Kalbshirn, sowie Rinderhirn in der Weise auf, daß wir das von Gehirnhäuten befreite und oberflächlich mit Wasser abgespülte Gehirn durch die Fleischmaschine laufen ließen und den erhaltenen Brei in Aceton verteilten. Die wässerige acetonige Lösung wurde abfiltriert und der Hinrückstand neuerlich mit reinem Aceton übergossen und nach einigem Stehen wieder filtriert. Nach dem Abfiltrieren und Abpressen dieses Acetons wurde das so erhaltene Hirnpulver in einem großen kupfernen, innen verzinkten Soxhlet-Apparat mit warmem Aceton erschöpfend extrahiert. Hierauf wurde die Masse, nachdem man sie im Vakuum von Aceton befreit hatte, mit leicht siedendem Petroläther erschöpft, dieses möglichst bei Abschluß von Licht. Nach der Extraktion mit Petroläther wurde das restierende Hirnpulver mit siedendem absolutem Alkohol so lange ausgekocht, solange der Alkohol noch beim Abkühlen einen weißen Bodensatz absetzte oder mit Chlorcadmium eine Fällung gab. Hierauf wurde das Gehirn mit 85%igem Alkohol siedend heiß

[1]) Journ. of Physiol. 34, Nr. 1 u. 2, 13. III. 1906. — Christine Tebb, ebenda 34, Nr. 1 u. 2, 13. III. 1906.

erschöpft, dann getrocknet und noch mit Äther nachextrahiert. Dieses Verfahren haben wir später in zweierlei Weise noch modifiziert. Bei der Verarbeitung im großen Stile, und wir verarbeiten ca. 100 kg auf einmal, trockneten wir den Hirnbrei rasch bei 100°, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß die wesentlichsten Substanzen durch diesen Vorgang nicht alteriert werden. Ferner haben wir zwischen die Petrolätherextraktion und das Auskochen mit absolutem Alkohol noch eine Extraktion mit reinem, krystallisierten Benzol eingeschoben. Das Benzol löst im wesentlichen diejenigen Körper, welche bei unserem frühern Verfahren bei der Extraktion mit 85 %igem Alkohol gewonnen wurden. Auf diese Weise kamen wir zu folgenden, sehr interessanten Resultaten:

Wir verarbeiteten Gehirn in Portionen von 100 kg. 90 Menschenhirne wogen nach Entfernung der Hirnhäute und der Blutflüssigkeit 106 kg 930 g. Im Durchschnitt zeigte bei mehrfachen Versuchen das Menschenhirn einen Gehalt an Trockensubstanz von 23 %.

Acetonextrakt.

Diese Trockensubstanz gab nun an wässeriges und an konzentriertes Aceton eine Reihe von Substanzen ab, so daß aus den acetonigen Lösungen 10,96 % Rohcholesterin und 9,64 % Extraktivstoffe sich isolieren ließen, die zum Teil wenigstens Lipoidcharakter zeigten, zum großen Teil aber aus anorganischem Material bestanden. Die Verarbeitung zur Gewinnung dieser Extrakte wurde in der Weise durchgeführt, daß das Aceton zuerst kalt und dann heiß bis zur Erschöpfung auf die Gehirne einwirkte. Diese vorherige Entfernung des Cholesterins erschien uns ungemein wichtig für die Trennung und Aufarbeitung der Phosphatide und Galactoside, weil das Cholesterin in so reichen Mengen im Gehirne vorhanden ist und so intensiv die Lösungsverhältnisse der anderen Lipoide beeinflußt, daß an eine Scheidung der übrigen Substanzen nicht gedacht werden kann, bevor nicht das Cholesterin entfernt ist. Nach der Entfernung des Cholesterins liegen wesentlich einfachere Verhältnisse vor, und man gelangt in rascher Weise zu einheitlichen Substanzen und kann die Entmischung mit anderen Lösungsmitteln viel weiter treiben, ohne

noch die metallischen Fällungsmittel zu benützen, denn das vorzeitige Einwirkenlassen von metallischen Fällungsmitteln führt zur Darstellung von Metallverbindungen, die durchaus weiter nicht trennbar sind, und erst nach mühseligen Analysen bemerkt man, daß man ein Gemenge von Substanzen und nicht einen einheitlichen Körper vor sich hat.

Es liegen wohl in der Literatur einzelne Angaben über den Cholesteringehalt des Gehirnes vor, aber sie sind nur so nebenbei gefallen. Selbst Thudichum, dem wir so ausgezeichnete Versuche über das Gehirn verdanken, legt auf die Gegenwart des Cholesterins, welches er aus dem Gehirn rein darstellen konnte, wie vor ihm ja schon die französischen Forscher, keinen besonderen Wert, wenn er auch öfter angibt, daß die Löslichkeitsverhältnisse der verschiedenen fettartigen Substanzen des Gehirnes in organischen Solvenzien durch die Gegenwart von Cholesterin wesentlich beeinflußt sind.

Die Angaben über den Cholesteringehalt des Gehirnes schwanken recht beträchtlich; jedenfalls ist es für uns von Interesse, daß es im Gehirn auch zur Cholesterinsteinbildung kommen kann, wie sonst nur in der menschlichen Galle, und Barrier[1]) beschreibt Konkretionen im Plexus Chorioideus der Seitenventrikel des Gehirnes, und zwar zwei Steine von zusammen 25 g, welche aus Kalksalzen und Cholesterin bestanden. Im Hundehirn fand F. N. Schulz[2]) 12,7% Cholesterin auf das trockene Gehirn gerechnet, was auf das feuchte Gehirn 3,48% Cholesterin ausmachen würde, und Christine Tebb[3]) extrahierte nach der Methode von Rosenheim mit Gips und Sand gemischtes Gehirn mit kaltem Aceton und erhielt aus 900 g Menschenhirn ungefähr 20 g Rohcholesterin, was 2,22% Cholesterin auf feuchtes Gehirn gerechnet ergeben würde. Thudichum fand in 1296 g Gehirn 24,21 g Cholesterin, was einem Prozentgehalt von 1,8% Cholesterin entspricht.

Bei unseren Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß das gesamte Cholesterin im Gehirn in freiem Zustande sich befindet, entgegen den Angaben von Baumstark[4]), welcher

---

1) Gazette medicale 1878, 186.
2) Pflügers Archiv 66, 145.
3) Journ. of Physiol. (l. c.).
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 145.

annimmt, daß ein Teil des Cholesterins im Gehirn mit Ölsäure verbunden ist. Diese letztere Angabe haben schon sowohl Christine Tebb, als auch Bünz[1]) widerlegt. Bünz zeigte, daß der Ätherextrakt vom Gehirn nach der Fällung der Phosphatide mit Aceton aus reinem Cholesterin bestand, eine Angabe, die wir nach den Resultaten unserer neuen Methodik vollständig bestätigen können.

Die Entfernung des Cholesterins aus dem Gehirn beruht, wie oben erwähnt, auf der bekannten guten Löslichkeit von Cholesterin in Aceton und auf der ebenso bekannten Unlöslichkeit der meisten Phosphatide in diesem Lösungsmittel. Doch wird dieses Rohcholesterin noch von mehreren Phosphatiden begleitet, und zur Reinigung von diesen haben wir mehrfache Wege eingeschlagen, je nachdem, ob wir auf die Darstellung der Phosphatide oder auf die reine Darstellung des Cholesterins mehr Wert legten. Zur Darstellung des Cholesterins empfiehlt sich am besten das von Mauthner empfohlene Verfahren, siedend heißen Eisessig mit dem Rohcholesterin zu sättigen, dann erkalten zu lassen, die Cholesterinessigsäureverbindung nach dem Erkalten abzusaugen und mehrfach aus 85°/$_0$igem Alkohol umzukrystallisieren, bis man den stimmenden Schmelzpunkt hat. Neben dem Cholesterin fanden wir durch Fällung der Mutterlaugen mit alkoholischer Chlorcadmium-Lösung Phosphatide, die sich durch Benzol in einen kleineren benzollöslichen und in einen größeren benzolunlöslichen Teil trennen lassen. Dieser benzolunlösliche Teil wurde mehrfach aus 95°/$_0$igem Alkohol umkrystallisiert, und man erhält ein weißes Pulver, das recht undeutlich krystallisiert, bei 185° langsam erweicht und unscharf zwischen 208° und 212° schmolz. Diese Cadmiumverbindung gab keine der feinen Reaktionen für ungesättigte Verbindungen, weder die v. Baeyersche noch die Oleocholid-Reaktion, sie ist daher als eine gesättigte Verbindung anzusehen. Die benzollösliche Cadmiumverbindung aus dem Acetonextrakt wurde aus der benzolischen Lösung mit absolutem Alkohol gefällt, und man erhielt stark lichtbrechende, undeutlich ausgebildete Krystalle, welche unter vorhergehender Bräunung zwischen 215° und 217° schmolzen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 47.

Petrolätherextrakt.

Hat man nun das Gehirn mit kaltem und heißem Aceton vollkommen erschöpft, so geht man daran, das vom Aceton im Vakuum befreite Pulver mit Petroläther zu extrahieren. Dabei erhielten wir einen lichtgelben petrolätherischen Extrakt, welcher 27,836 $^0/_0$ der Trockensubstanz aufgenommen hatte. Die Hauptmasse der phosphorhaltigen Körper war also in diesen Extrakt übergegangen. Es ließ sich leicht zeigen, daß dieser Extrakt im wesentliehen aus zwei Gruppen von Verbindungen besteht. Wenn man die petrolätherische Lösung mit absolutem Alkohol versetzt, so entsteht sofort ein dicker Niederschlag, der nach einiger Zeit sich völlig absetzt (Kephalinfraktion). Wir nennen diesen Niederschlag Kephalinfraktion, weil er der Hauptsache nach aus der von Thudichum „Kephalin" genannten Substanz besteht, welche wir eingehend studieren. Löst man nun diese Kephalinfraktion von neuem in Petroläther auf, so bemerkt man, daß sie beim Stehen einen weißen Bodensatz absetzt, welcher sich bei längerem Stehen noch vermehrt. Durch Zentrifugieren der petrolätherischen Lösung der Kephalinfraktion läßt sich ein Galactosid darstellen, dessen Reindarstellung und chemische Zusammensetzung demnächst mitgeteilt werden wird. Durch wiederholtes Lösen in Petroläther und Fällen mit absolutem Alkohol kann man immer reineres Kephalin bekommen, wenn man nur immer vor dem Fällen abwartet, bis sich die weiße Substanz, das neue Galactosid, abgesetzt hat, und eventuell unterstützt man noch dieses Absetzen durch Zentrifugieren. Der Hauptsache nach ist auf diese Weise das Kephalin gereinigt. Dieses Rohkephalin nun wird seiner Darstellung und Reinigung nach weiter von Dr. E. Neubauer beschrieben werden. Der weiße Bodensatz läßt sich nur schwierig reinigen, es haftet ihm immer etwas Kephalin an, das man erst entfernen muß. Der Bodensatz besteht dann aus einer einheitlichen Substanz, die sich als ein Galactosid erweist, frei ist von Phosphor und Schwefel und durchaus different von den bisher beschriebenen Galactosiden. Diese Substanz wird demnächst von Dr. Kurt Linnert beschrieben werden.

Petroläther-alkoholische Lösung.

Der petrolätherisch-alkoholische Anteil gibt bei Fällung mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung Cadmiumverbindungen, die in Benzol fast vollkommen löslich sind. Diese Verbindungen sind durchaus nicht einheitlicher Natur. Es empfiehlt sich vielmehr, diese Fraktion in der Weise zu verarbeiten, daß man nach dem Abdestillieren des Petroläther-Alkohols den Rückstand wieder in absolutem Alkohol löst und die Lösung mit einer schwach ammoniakalischen, alkoholischen Bleiacetatlösung so lange fällt, als noch ein Niederschlag entsteht. Diesen Niederschlag saugt man ab und wäscht ihn mit Alkohol. Der Hauptsache nach, bis auf einen unwesentlichen Rückstand, löst sich die Bleiverbindung in Benzol auf; sie kann aus diesem durch Alkohol wieder gefällt werden. Es handelt sich hier vielleicht um das von Thudichum beschriebene Myelin. Wir sind mit der Aufarbeitung dieser Substanz eben beschäftigt. Aus der mit Blei gereinigten Lösung wird nun so lange Alkohol abdestilliert, bis er nicht mehr ammoniakalisch übergeht, und zu der nun konzentrierteren Lösung so lange unter Umrühren und Schütteln absolut alkoholische Salzsäure zugesetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Auf diese Weise gelingt es ohne Verwendung von Schwefelwasserstoff, das Blei aus der Lösung bis auf Spuren zu entfernen. Zu dem Filtrate von Chlorblei setzt man nun alkoholische Chlorcadmiumlösung zu. Es wird durch diese eine sehr große Menge Substanz gefällt, die man vom Alkohol durch Filtration trennt und in Benzol löst, in welchem sie bis auf anorganische Salze löslich ist. Da eine Filtration dieser benzolischen Lösung nicht angängig ist, zentrifugiert man sie, gießt von dem Niederschlag ab und kocht ihn so lange unter Ersatz von frischem Benzol, bis das Benzol klar destilliert. Diese benzolische Lösung wird nun mit absolutem Alkohol gefällt und mehrfach mit absolutem Alkohol ausgekocht, bis dieser nichts mehr aufnimmt und auch nicht mehr nach Benzol riecht. Durch wiederholtes Lösen in Benzol und Fällen mit absolutem Alkohol erhält man die Substanz rein, die ein vom Lecithin differentes Monoamino-Monophosphatid ist.

Wir kehren nun zur Hauptdarstellung zurück.

Benzolfraktion.

Das nun mit Petroläther völlig erschöpfte Gehirnpulver wird nach Abdunsten des Petroläthers im Soxhlet-Apparat mit krystallisiertem thiophenfreiem Benzol extrahiert. Benzol nimmt 13,53 % der Trockensubstanz auf. Die benzolische Lösung wird mit absolutem Alkohol gefällt, solange noch ein Niederschlag entsteht. Dieser Niederschlag löst sich nur zum kleinsten Teil in siedendem absolutem Alkohol. Wässert man aber den Alkohol und verwendet man insbesondere 85 %igen Alkohol, so erhält man eine vorzügliche Lösung, welche nach der Filtration sehr gut krystallisiert. Unter allen Umständen bleibt ein Teil dieser Fraktion sowohl im absoluten als auch gewässerten Alkohol unlöslich, löst sich aber dann wieder sowohl in Benzol als auch in Toluol, sowie in Tetrachlorkohlenstoff und läßt sich mit Erfolg aus Amylacetat umkrystallisieren.

Alkoholfraktion.

Das nun mit Benzol erschöpfte Gehirnpulver wird mit absolutem Alkohol wiederholt ausgekocht, bis der Alkohol beim Erkalten weder einen Niederschlag absetzt noch mit Cadmiumchlorid irgend eine Fällung zeigt. Der Alkohol nimmt noch 6,256 % Substanz auf. Sowohl der Benzolextrakt als auch der Alkoholextrakt bestehen aus phosphor- und schwefelhaltigen Galactosiden.

Wird nun das Gehirnpulver mit Äther nachextrahiert, so gibt es an diesen noch eine ganz unwesentliche Menge Substanz ab, welche nur 0,9162 % der Trockensubstanz beträgt. Es hinterbleiben also 31,628 % des Trockenrückstandes, welche weder in Aceton noch in Petroläther, noch in Benzol, noch in Alkohol und Äther löslich sind und die der Hauptsache nach aus den verschiedenen Eiweißkörpern des Gehirnes, aus Asche und aus einzelnen Extraktivstoffen bestehen.

Rekapitulieren wir nun das bisher Gesagte, so sehen wir, daß diese neue Aufbereitung der Gehirnsubstanzen wesentliche Fortschritte in der Entmischung dieser Substanzen in der Weise bringt, daß man schon von vornherein mit dem spezifischen Lösungsmittel bestimmte Körperklassen herausholt und immer mehr und mehr die Entmischung ermöglicht. Die Wahl der Lösungsmittel ist in der Weise getroffen, daß man vorerst mit

Aceton das gesamte Cholesterin entfernt, daß man mit dem Petroläther die sehr empfindlichen ungesättigten Phosphatide extrahiert, denen gegenüber der Äther ein sehr stark oxydierendes und daher unbrauchbares Mittel ist, daß der Petroläther aber von den Galaktosiden nur ein einziges mitlöst, alle anderen aber unberührt läßt. Benzol nimmt nur eine Gruppe der phosphor- und schwefelhaltigen Substanzen mit, und zwar diejenigen, welche im absoluten Alkolol nicht löslich sind, daneben Substanzen anderer Art, mit deren Trennung und Studium wir uns beschäftigen. Der Alkohol aber, den wir fast erst zum Schluß verwenden, nimmt wieder eine Gruppe von phosphor- und schwefelhaltigen Körpern auf, die wesentlich dadurch von den in Benzol gelösten differieren, daß sie schon in heißem absolutem Alkohol sich glatt und vollständig lösen. Wir haben diese Gruppen schon vorher beobachtet, als wir nach der Petroläther-Extraktion das Gehirn zuerst mit absolutem und dann mit verdünnterem Alkohol extrahierten. Wir sahen, daß der absolute Alkohol nur einen Teil der sogenannten Protagonkörper, die nichts anderes sind als gesättigte Phospho-Sulfatide, aufnimmt, und daß ein weiterer Anteil erst mit gewässertem Alkohol in Lösung geht und daß der zweite Anteil aus absolutem Alkohol sich nicht umkrystallisieren läßt, sondern daß man immer wasserhaltigen Alkohol dazu verwenden muß. Durch diese Untersuchungen wird klarer, warum alle Bemühungen in der Gehirnchemie, zu ganz reinen Substanzen zu gelangen, scheiterten, da eine Entwirrung und Entmischung des komplizierten Substanzengemenges, nachdem man alles zusammen mit Alkohol dem Gehirn entzogen, durch Lösungsmittel und Metallfällungen nicht mehr durchführbar ist.

Andrerseits haben die meisten Untersucher übersehen, daß die verschiedenen aus Gehirn dargestellten Substanzen ungemein energisch mineralische Bestandteile festhalten und daß sie fast durchwegs, wenn sie auch über wasserfreie Lösungsmittel gereinigt sind, beträchtliche Mengen von Asche enthalten, so daß wir sie erst durch besondere Verfahren ihrer Aschenbestandteile berauben mußten und wir bei einzelnen sahen, daß es sich tatsächlich um eine salzartige Bindung handelt, und wenn man die Metalle entfernt, man Körper mit sehr differenten physikalischen Eigenschaften erhält.

Dieser Reichtum an Asche, den viele Untersucher übersehen haben, mag auch die Ursache gewesen sein, daß so differente analytische Resultate der verschiedenen Substanzen von den verschiedenen Forschern erhalten wurden.

Tabelle der Extraktionsresultate für Menschenhirn.

23% Trockensubstanz		Trockensubstanz %
Acetonextrakt	Rohcholesterin	10,96
	Phosphatide u. unbestimmte Extraktivstoffe	9,64
Petrolätherextrakt		27,836
Benzolextrakt		13,53
Alkoholextrakt		6,256
Ätherextrakt		0,916
Rückstand (Proteine usw.)		31,628

Aus der Zusammenstellung der Resultate ersehen wir, daß die Gehirntrockensubstanz aus rund $^2/_3$ lipoidartigen Substanzen und nur aus $^1/_3$ eiweißartigen Substanzen besteht, daß 10% der Trockensubstanz Cholesterin sind, etwa 30% ungesättigte Verbindungen, und wenn man die Lipoide für sich betrachtet, so sieht man, daß von den Lipoiden ca. 17% Cholesterin sind, 48,293% ungesättigte Verbindungen und 34,482% gesättigte Verbindungen.

* * *

Wir haben das hier mitgeteilte Verfahren der fraktionierten Extraktion mit viel Erfolg beim Studium der Lipoidsubstanzen anderer Organe ebenfalls verwendet. Bei jedem einzelnen Organ muß nach unseren Erfahrungen die Methode im Detail etwas abgeändert werden, entsprechend der sehr verschiedenen Natur der Lipoide aus differenten Organen.

Eine neue Methode zur Reinigung der Peroxydase.

Von

N. T. Deleano.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 28. Mai 1909.)

Vor kurzem haben wir mitgeteilt, daß die Samen des Ricinus communis während der Keimung reichlich Peroxydase enthalten; ein aus 5 Pflanzen nach 20 Tage langer Keimung bereiteter Wasserextrakt gab 0,1400 g Purpurogallin aus 1,0 g Pyrogallol und 10 ccm 1°/$_0$iger Wasserstoffsuperoxydlösung. Es erwies sich, daß beim Trocknen der Samen bei einer Temperatur von 20 bis 22° C und lebhafter Luftdurchleitung die oxydierende Eigenschaft derselben sistiert bleibt, um nachher wieder aufzutreten, und daß eine aus so getrockneten Samen oder jungen Pflanzen bereitete Wasseremulsion nach einigen Tagen beim Stehen bei einer Temperatur von 20 bis 37° C progressierend oxydierende Eigenschaft aufwies.

Zur näheren Kenntnis dieser Frage wurden die 10 bis 12 cm langen Pflanzen, d. h. am 20. oder 22. Tage der Keimung, in einem besonderen Apparate bei starker Luftdurchleitung getrocknet (20 bis 22° C).

Aus einer bestimmten Zahl getrockneter Pflanzen wurde eine Wasseremulsion bereitet und dieselbe in einen Thermostat bei 37° C gestellt. Täglich wurde eine 5 Pflanzen entsprechende Menge der Emulsion zum Oxydationsversuch von 1,0 g Pyrogallol mit 10 ccm 1°/$_0$iger Wassertoffsuperoxydlösung in einem Gesamtflüssigkeitsvolumen von 100 ccm angewandt. Die Resultate sind in folgender Tabelle dargestellt:

Tabelle I.

Zeit der Bestimmung	Quantität des erhaltenen Purpurogallins in Grammen
nach 1 Tage	0,0005
„ 2 Tagen	0,0025
„ 3 „	0,0135
„ 4 „	0,0321
„ 5 „	0,0593
„ 6 „	0,0491
„ 7 „	0,0121

Zur näheren Erforschung dieses Vorganges versuchten wir zunächst, die Peroxydase möglichst gut von verschiedenen Verunreinigungen zu befreien, indem wir das von Kahlbaum dargestellte Liquor ferri oxyd. dialys. colloidale anwandten. Dieses Präparat wurde von Rona[1]) zur vollständigen Eiweißfällung empfohlen, sogar minimale Spuren werden mit in den Niederschlag gezogen und dabei verhält es sich absolut indifferent zur Peroxydase.

Zu diesen Reinigungsversuchen der Peroxydase wurde der Raphanusextrakt angewandt.

Zur Fällung der Eiweißkörper wurden 50 ccm Raphanusextrakt mit 2 bis 3 ccm der Kahlbaumschen kolloidalen Eisenlösung versetzt, woraufhin in kurzer Zeit ein voluminöser flockiger Niederschlag erhalten und abfiltriert wurde. Das indifferente Verhalten der kolloidalen Eisenlösung geht aus folgender Tabelle hervor.

Tabelle II.

1. 1,0 g Pyrogallol + 10 ccm 1% H_2O_2 + 50 ccm Raphanusextrakt gaben nach 24 Stunden 0,2525 g Purpurogallin;
2. 1,0 g Pyrogallol + 10 ccm 1% H_2O_2 + 50 ccm Raphanusextrakt, von Eiweißstoffen befreit, gaben nach 24 Stunden 0,266 g Purpurogallin.

Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß die Peroxydase durch das Liq. ferri oxyd. colloid. nicht gefällt wird, wurden 2000,0 g Raphanus gut verrieben und bei lebhafter Luftdurchleitung getrocknet, die getrocknete Substanz einige Male mit Alkohol

---

[1]) Diese Zeitschr. 13, 222.

ausgewaschen, 2000,0 g Wasser zugefügt und auf 6 bis 7 Tage bei einer Temperatur von 20 bis 22° C an einen dunklen Ort gestellt, dann filtriert, der Rückstand gut ausgepreßt und im Filtrat die Eiweißfällung mit der kolloidalen Eisenlösung vorgenommen.

(5 ccm der Eisenlösung auf 100 ccm Filtrat genügten zur vollständigen Eiweißausfällung:)

Tabelle III.

	Pyrogallol	1% H_2O_2	Raphanusextr.	Kolloid. Eisenlös.	Dauer	Purpurogallin
1.	1,0	10 ccm	50 ccm	—	24 St.	0,2525 g
2.	1,0	10 „	50 „	5 ccm	24 „	0,2660 „
3.	1,0	10 „	50 „	10 „	24 „	0,2650 „

In allen drei Versuchen war das Volumen mit Wasser auf 100 ccm gebracht.

Um eine möglichst reine Peroxydase zu gewinnen, wurde der von Eiweißkörpern befreite Raphanusextrakt mit Spiritus versetzt, die gefällte Peroxydase abfiltriert und in einem luftleeren Raum getrocknet; die Ausbeute war geringer, das Produkt aber bedeutend aktiver.

0,05 g aus gewöhnlichem Raphanusextrakt gewonnene Peroxydase gaben 0,0645 Purpurogallin.

0,05 g aus von Eiweißkörpern isoliertem Raphanusextrakt gewonnene Peroxydase gaben 0,1500 Purpurogallin. Aus dem angeführten Versuch geht hervor, daß die Aktivität der Peroxydase durch Reinigung mit der kolloidalen Eisenlösung fast um das Doppelte steigt.

Die Eigenschaften der so gereinigten Peroxydase sind mit der ungereinigten identisch, nur ist das Verhalten zur Temperatur dagegen ganz verschieden. Die Versuche haben gezeigt, daß die Lösung der nicht gereinigten Raphanusperoxydase beim Sieden im Laufe von 5 bis 10 Minuten ihre oxydierende Eigenschaft verliert, nach einiger Zeit aber wieder mehr oder weniger zurückgewinnt. Die folgende Tabelle giebt einen Überblick über die aus 1,0 g Pyrogallol, 10 ccm 1% H_2O_2 und 50 ccm Raphanusextrakt in einem Volumen von 100 ccm nach dem Kochen erhaltenen Quantitäten Purpurogallins.

Tabelle IV.

Zeit der Bestimmung	Purpurogallin erhalten
Gleich nach dem Sieden . .	Nicht erhalten (—)
Nach 1 Tage	Geringe Spuren (+)
Nach 2 Tagen	Intensive Spuren
„ 3 „	0,0021 g
„ 5 „	0,0432 „
„ 7 „	0,0612 „
„ 10 „	0,0046 „

Aus rohem Raphanusextrakt wurde bei denselben Verhältnissen 0,2525 g Purpurogallin gewonnen.

Es könnte sich hier um gewissen Schutz der Peroxydase gegen chemische und physische Einflüsse durch die Eiweißkörper oder deren Derivate handeln. Man könnte annehmen, daß in dem kompliziert zusammengesetzten Komplex der Samen- und Pflanzenemulsion beim Trocknen resp. Erwärmen eine Verschiebung der Atomgruppen in der oder jener Richtung vor sich geht und daß die Peroxydase daher mit verschiedenen Elementen resp. Gruppen in zeitweilige mehr oder weniger stabile Verbindungen treten und dadurch zeitweise inaktiv werden kann. Diese Verbindungen können nach einiger Zeit oder unter dem Einfluß des Wassers dissoziieren und dadurch kann die Peroxydase teilweise wieder aktiv werden. Aus demselben Versuch mit der von Eiweißkörpern isolierten Peroxydase erwies es sich, daß nach dem Sieden keine Aktivität hervortritt, und daß sogar eine Erwärmung bis 55° C im Laufe von 3 Stunden sie vollständig zerstört, andererseits aber die von Eiweißkörpern nicht isolierte Peroxydase in demselben Falle an Aktivität nichts verlor.

Aus den angeführten Tatsachen kann man den Schluß ziehen, daß die Peroxydase meistens von Eiweißkörpern begleitet ist, welche sie gegen Temperatursteigerung gewissermaßen schützen (Fall Ricinus communis), und daß sie außerdem die Eigenschaft besitzt, mit den Eiweißkörpern resp. deren Derivaten in mehr oder weniger konstante Verbindungen zu treten, welche aber wieder teilweise dissoziieren können, wodurch die Peroxydase frei auftreten kann. Die Arbeit ist schon nach verschiedenen Richtungen fortgesetzt, und die Resultate werden in einer späteren Mitteilung veröffentlicht werden.

Zur biologischen Bedeutung des Lecithins.

II. Mitteilung.

Über den Lecithingehalt bei Degenerationen im Zentralnervensystem.

Von

W. Glikin.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 28. Mai 1909.)

Bei meinen Untersuchungen des Knochenmarkes[1]) fand ich, daß die neugeborenen Tiere und Menschen einen großen Vorrat an Lecithin mit auf die Welt bringen, der mit dem Wachstum des Tieres resp. des Menschen abnimmt bis zu einer bestimmten Grenze resp. Alter, wo der Lecithingehalt nahezu konstant bleibt. Beim menschlichen Kinde bleibt der Lecithingehalt, entsprechend der langsamen Entwicklung jahrelang verhältnismäßig sehr hoch und nimmt entsprechend dem Wachstum nicht so rasch ab, wie beim Tiere.

Das Fett des Knochenmarkes enthält

bei	einem	34	Jahre	alten	Manne	noch	3,30 %	Lecithin,
„	„	56	„	„	„	„	2,02 „	„
„	„	61	„	„	„	„	2,21 „	„
„	„	70	„	„	„	„	2,33 „	„
„	„	70	„	„	„	„	2,76 „	„
„	„	88	„	„	„	„	1,83 „	„

Aus dieser Zusammenstellung sehen wir, daß das Knochenmark eines 88jährigen Greises noch einen Lecithingehalt von 1,83 % aufweist — ein Wert, der uns zu der Annahme be-

[1]) Diese Zeitschr. 4, 235, 1907.

rechtigt, daß das Lecithin zu den beständigen Bestandteilen des Knochenmarkes gehört und unter normalen Verhältnissen auch im hohen Alter nicht verschwindet.

Nun drängt sich die Frage von selbst auf, wie gestaltet sich der Lecithingehalt des Knochenmarks unter pathologischen Verhältnissen? Ist der Lecithingehalt des Knochenmarks bedeutenden Schwankungen unterworfen, oder schwindet das Lecithin überhaupt? Daß das Lecithin in den verschiedensten pathologischen Geweben oder Flüssigkeiten gefunden worden ist, ist bekannt; vom Knochenmark aber wissen wir nichts. Eine Diskussion der Frage nach dieser Richtung hin schien mir für die weitere Klärung der biologischen Bedeutung des Lecithins von besonderem Interesse.

Zu diesem Zweck habe ich gemeinschaftlich mit Dr. G. Peritz an der zweiten medizinischen Klinik der Charité eine Reihe von pathologischen Knochen untersucht. Wir hielten es für zweckmäßig, unser Augenmerk zunächst der Paralyse zuzuwenden. Die von uns untersuchten Röhrenknochen von Paralytikern und einem Tabiker gaben folgende Resultate.[1]) (Diese Untersuchungen werden fortgesetzt).

	Alter	Lecithingehalt %	Bemerkungen
D., Mann	36	Spuren	Dementia paralytica
A., „	32	0,285	„ „
W., „	43	kein	„ „
M., „	42	„	„ „
W. C. „	43	2,23	„ „
N., „	40	1,195	„ „
X., „	—	Spuren	Tabes
B., „	42	„	Dementia paralytica
Ma., „	33	„	„ „
B. Sch., Frau . . .	30	4,21	„ „
U. K., „ . . .	31	2,40	„ „

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß nicht nur eine Verminderung des Lecithingehaltes, sondern ein vollkommener Schwund stattgefunden hat in 6 Fällen, denn die in Spuren

[1]) Einen Teil dieser Resultate hat Dr. Peritz in seiner Publikation „Über das Verhältnis von Lues, Tabes und Paralyse zum Lecithin", Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 5, zitiert.

gefundenen Mengen können nicht mehr in Rechnung gesetzt werden. Der Fall mit 1,195 % bedeutet im Vergleich mit dem normalen Mittelwert von 2,4 % oder mit dem Gehalt im höchsten Greisenalter 1,83 % eine entschiedene Verminderung; abgesehen von dem bei einem 34 jährigen Manne gefundenen Werte von 3,30 %, dem unser Fall dem Alter nach (40 Jahre) am nächsten steht. In 3 Fällen haben wir jedoch Werte erhalten, die von den Grenzen der Norm nicht im geringsten abweichen. Bei der Betrachtung unserer Befunde vom pathologischen Standpunkte aus werden wir auch auf diese abweichenden Resultate zurückkommen.

Das Ergebnis dieser Untersuchung braucht keine besonderen Erläuterungen; es ist hieraus klar ersichtlich, daß in der chemischen Zusammensetzung des Knochenmarkes bei Paralytikern eine Veränderung stattfinden kann, die sich in einer Verarmung resp. in einem Schwund des Lecithins äußert, daß das Lecithin demnach als eine für die Funktion des Organismus außerordentlich wichtige Substanz betrachtet werden kann. Ob zwischen der Abnahme resp. dem Schwunde des Lecithins und den Erscheinungen der progressiven Paralyse ursächliche Zusammenhänge bestehen, sollen die weiteren Untersuchungen ergeben.

In meinen Untersuchungen über den Eisengehalt der Fette und Lipoide[1]) habe ich auf die Analogie zwischen dem Lecithin- und Eisengehalt im Fette des Knochenmarkes hingewiesen, deren Abnahme mit dem Wachstum Hand in Hand geht. Nun war es selbstverständlich, anzunehmen, daß beim Schwinden des Lecithins aus dem Knochenmark auch kein Eisen im Fett mehr nachweisbar sein müßte, da der Eisengehalt des Fettes durch den Eisengehalt der Lipoide — Lecithin und Cholesterin — bedingt wird (Glikin, l. c.). Dies hat sich auch in der Tat bestätigt: wo ich kein Lecithin fand, war auch kein Eisen vorhanden, während die Fälle mit dem normalen Lecithingehalt einen entsprechenden Eisengehalt aufweisen, wie folgende Tabelle zeigt.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 910, 1908.

	P_2O_5 %	Fe_2O_3 gefunden %	Fe_2O_3 berechnet %
D., Mann . . .	Spuren	kein	—
A.. „ . . .	0,0251	„	0,0094
W., „ . . .	kein	„	—
M., „ . . .	„	„	—
W. C. „ . . .	0,1959	0,1025	0,0736
N., „ . . .	0,1052	0,0479	0,0395
X., „ . . .	Spuren	kein	—
B., „ . . .	„	„	—
Ma., „ . . .	„	„	—
B. Sch., Frau . .	0,3700	0,1460	0,1389
U. K., „ . .	0,2111	0,0969	0,0793

Der Berechnung der Eisenwerte aus dem Lecithin- resp. Phosphorgehalt habe ich auch hier die Relation

$$\frac{Fe_2O_3}{2} : \frac{3P_2O_5}{2} = x : a$$

(die gefundene Menge P_2O_5) zugrunde gelegt und, wie aus den Zahlen ersichtlich ist, stimmen die gefundenen mit den berechneten Mengen Eisen fast überein.

Hämoglobinzerstörung in der Leber.

Von

Leo Heß und Paul Saxl.

(Aus der ersten medizinischen Klinik der Universität in Wien.)

(Eingegangen am 2. Juni 1909.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Anschauung, daß in der Leber des erwachsenen Menschen und der Tiere ebenso wie in den Capillaren der Milz und des Knochenmarks ein Untergang von roten Blutkörperchen stattfindet, darf seit den Untersuchungen Quinckes als allgemein geltend bezeichnet werden. Die hier zerstörten Blutkörperchen werden teils zu gefärbten, teils zu farblosen Eisenalbuminaten umgewandelt, die einem doppelten Zwecke dienen: einerseits der Neubildung von Erythrocyten, anderseits der Erzeugung von Gallenfarbstoff. Sowohl die Zerstörung von Blutkörperchen, als auch der Abbau von Hämoglobin werden allgemein der Leberzelle als eine spezifische Leistung zugeschrieben, obwohl zur Stütze dieser Ansicht zumeist nur indirekte Beweise beigebracht wurden. Wenn angegeben wird, daß das Blut der Lebervene an roten Blutkörperchen ärmer sei als das der Leberarterie, so darf daran erinnert werden, daß lokale Störungen der Zirkulation leicht eine geänderte Verteilung der Blutzellen zur Folge haben können. Kommt es durch innere Blutungen oder durch die Gegenwart von hämolytisch wirkenden Giften zu einem erhöhten Blutkörperchenzerfall, so pflegt der Eisengehalt der Leber erhöht zu sein. Da aber auch hypodermal eingeführtes Eisen sich in der Leber ablagert, so muß der vermehrte Eisengehalt der Leber unter den früher genannten Umständen nicht unbedingt einem vermehrten Untergang von Hämoglobin führenden Zellen in der Leber seinen Ursprung verdanken.

Aus älteren Versuchen, die unter Alexander Schmidts Leitung Anthen durchführte,[1]) geht hervor, daß „überlebende" Leberzellen die Fähigkeit besitzen, gelöstes Hämoglobin aufzunehmen und bei Gegenwart von Glykogen in ein dem Gallenfarbstoff nahestehendes Pigment teilweise umzuwandeln.

Wenn auf Grund der erwähnten Beweise die Lehre aufgestellt wurde, daß der gesunden Leberzelle die Fähigkeit zukomme, Hämoglobin zu zerstören, so scheinen uns demgegenüber zahlreiche klinische Erfahrungen dafür zu sprechen, daß ihr unter pathologischen Bedingungen diese Fähigkeit mangelt.

In Fällen von Phosphorvergiftung, die bekanntlich zur schwersten Leberzellschädigung führt, wurden übernormale Werte der Erythrocyten aufgefunden.[2]) Dabei soll nach v. Jacksch der Eiweißgehalt des Blutes und des Serums sowie der Wassergehalt normal sein, so daß eine Bluteindickung ausgeschlossen erscheint. Ähnliche Blutbefunde wurden erhoben bei der Vergiftung mit Kohlenoxyd und bei der akuten gelben Atrophie (E. Grawitz). Ob dementsprechend die Gallenfarbstoffproduktion darniederliegt, läßt sich mit Sicherheit nicht feststellen, da eine quantitative Bestimmung desselben am lebenden Menschen nicht möglich ist. So weit aber das Verhalten der Blasengalle an der Leiche ein Urteil gestattet, ist die Bildung des Gallenfarbstoffs sowohl bei der Phosphorvergiftung, als auch bei der durch fieberhafte Infektionen bedingten Leberzelldegeneration herabgesetzt. In dem gleichen Sinn läßt sich vielleicht das Auftreten eines gelbbraunen Pigments bei der sogenannten braunen Atrophie der Leber deuten, das auf eine unvollkommene Zerstörung des Hämoglobins durch die atrophische Leberzelle hinweist.

Von hohem klinischen Interesse scheint uns vor allem das Verhalten der cirrhotischen Leber zu sein, deren Zellen immer zum großen Teil — gleichgültig ob primär oder sekundär — mehr oder minder hohe Grade der Degeneration aufweisen. Ein sicheres Urteil über das Maß der Hämoglobinzerstörung und der Gallenfarbstoffproduktion bei der Cirrhose zu gewinnen, stößt deshalb auf große Schwierigkeiten, weil einerseits bei der

---

[1]) Zitiert nach Landois, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. 9. Auflage, 1896, S. 335.

[2]) Taussig, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 30, 261, 1892.

großen Regenerationsfähigkeit der Leber der Ausfall ausgedehnter Zellkomplexe durch neugebildete junge Zellen überkompensiert werden kann. Die vermehrte Urobilinurie, die sich bei zahlreichen Cirrhosen findet, könnte hierin begründet sein. Anderseits bleibt zu berücksichtigen, daß die der Cirrhose vorangehenden Grundkrankheiten (z. B. Lues, Tuberkulose) als solche eine extrahepatale Blutschädigung herbeiführen können, die sich klinisch als Anämie darstellt. Die Hautfarbe der Cirrhotiker, bei denen keine schwere Konstitutionskrankheit besteht, ist nicht blaß, sondern erdfahl, und wenn, wie so häufig, Gallenfarbstoff im Harn fehlt, besteht die Möglichkeit, sie auf abnorme anderweitige Produkte des Hämoglobins zu beziehen. Bei nicht tuberkulösen Cirrhosen konnten wir in mehreren Fällen ebenso wie Türk[1]) Hyperglobulie nachweisen. Daß die Menge des Gallensekretes gering ist, läßt sich daraus erkennen, daß in den späteren Stadien der Cirrhose die Exkrete des Darms eine abnorm helle Farbe zeigen, auch wenn kein Ikterus besteht (Thierfelder).

Bei Versuchen über die postmortale Autolyse der Leber beobachteten wir gelegentlich autolysierende Lebern von normalen Tieren und solchen, die durch Vergiftung (Phosphor, Arsen) oder Toxinwirkung umgekommen waren. Dabei zeigte sich regelmäßig, daß die im Anfang rosarote Farbe der normalen Leber nach wenigen Tagen einer gelbbraunen Verfärbung Platz machte, während die Leber der kranken Tiere verhältnismäßig lange ihr tiefrotes Kolorit beibehielt. Offenbar war bei der normalen Leber eine Zerstörung des Hämoglobins schuld an ihrer Verfärbung, während bei der Leber der kranken Tiere eine Zellschädigung in dem Sinne bestand, daß die Hämoglobinzerstörung ausblieb. Wir gingen diesem zufällig erhobenen Befunde nach und schlugen zur weiteren Verfolgung zwei Wege der Beobachtung ein.

Wir ließen die Leber von normalen und von vergifteten Tieren längere Zeit hindurch unter den üblichen Kautelen im Brutschrank autolysieren, filtrierten dann von Zeit zu Zeit einige Kubikzentimeter Flüssigkeit ab, die wir sowohl spektroskopisch untersuchten als auch nach Fleischl auf ihren Hämoglobingehalt

---

[1]) W. Türk, Klin.-therapeut. Wochenschr. 1903, 1382.

prüften. Was das makroskopische Verhalten uns früher gezeigt hatte, ließ sich jetzt systematisch nachweisen: die normale Leber zerstört das in ihr enthaltene Hämoglobin in kurzer Zeit nahezu vollständig, während die Leber von mit Phosphor, Arsen, Strychnin, Coffein, Chloroform, Diphtherietoxin vergifteten Tieren ihren Hämoglobingehalt viel länger beibehielt und ihn nur allmählich verringerte. Interessant war, daß die Leber der durch Chloroformnarkose getöteten Tiere das Bild der Zellschädigung aufwies, während sich die in Äthernarkose getöteten Tiere wie normal verhielten.

Wir werden durch diese Befunde zu der Annahme gedrängt, daß eine im weitesten Sinne toxische Zellschädigung Ursache ist an der Abschwächung der Hämoglobinzerstörung. Betrachten wir diese als eine Funktion der normalen Leberzelle, so führen die erwähnten Gifte eine Insuffizienz der Leberzellen herbei. Diese Insuffizienz der Leberzellen wäre den bereits bekannten Degenerationsformen als neuer Ausdruck einer Zellschädigung hinzuzufügen. Es ist dabei auffallend, daß Gifte wie Coffein und Strychnin, von denen bisher eine histologische oder funktionelle Veränderung der Leberzellen nicht sicher bekannt war, zu einer Störung der Leberfunktion führen können, die wohl als Teilerscheinung einer allgemeinen Alteration der Zellen des Organismus aufzufassen ist. Die Hämoglobinzerstörung durch die Leber, die bisher hypothetisch angenommen wurde, läßt sich nach den vorliegenden Experimenten als eine physiologische Leistung derselben erkennen. Die erwähnten pathologischen Zustände führen zur Herabsetzung dieser Leistung. Wenn in Krankheiten, die sicher mit einer Leberaffektion einhergehen, Ikterus zur Beobachtung kommt, so ist dieser wohl in erster Linie auf mechanische Ursachen zurückzuführen. Die im Verlaufe von Infektionskrankheiten auftretende Anämie dürfte nicht auf einem vermehrten Hämoglobinzerfall in der geschädigten Leber beruhen, sondern wäre auf eine anderweitige extrahepatale Blutnoxe zu beziehen.

I. Versuchsreihe.

Es wurde makroskopisch das Verhalten von Rattenlebern beobachtet, die von einer normalen und mehreren vergifteten

Ratten stammten. Eine normale weiße Ratte wurde durch Nackenschlag getötet; ein zweite durch Injektion von 0,02 gelben Phosphor (in Öl aufgeschwemmt), sie starb nach 20 Stunden; eine dritte durch Injektion eines $^1/_2$ ccm einer kaltgesättigten wässerigen Lösung von arseniger Säure; sie starb nach 16 Stunden. Die Lebern wurden bald nach dem Tode den Tieren entnommen, feinst zerschnitten, je 6 g in ein Wägegläschen gewogen, 20 ccm physiologische Kochsalzlösung und 2 ccm Toluol zugesetzt. Das Wägegläschen wurde gut durchgeschüttelt und verschlossen in den Brutofen gestellt. Häufig öffneten wir den Deckel der Wägegläschen, um den Luftzutritt zu ermöglichen, bei welchem nach unserer Erfahrung die Hämoglobinzerstörung leichter vor sich geht. Der Leberbrei hatte, so wie er angesetzt war, eine rote Farbe; die beiden vergifteten Lebern waren um eine Nuance tiefer rot als die normale. Während aber die letztere im Verlauf der nächsten Tage sich immer heller färbte und nach zehn Tagen hellgelbbraun war, änderten die von den vergifteten Tieren stammenden Leberportionen durch drei Wochen, während welcher Zeit wie sie beobachteten, ihre ursprüngliche Farbe nicht; sie blieben tiefrot. Nach dieser Zeit filtrierten wir die drei Leberbreie ab: Das Filtrat der normalen Leber war lichtgelb, das der Phosphorleber und der Arsenleber intensiv rot.

II. Versuchsreihe.

Eine normale Ratte und ein normales Meerschweinchen wurden am 8. 3. 1908 durch Nackenschlag getötet; ferner eine weiße Ratte mit Chloroform zu Tode narcotisiert; eine andere wie im vorigen Versuch mit Phosphor und eine mit Arsen vergiftet, das Phosphortier starb 42 Stunden, das Arsentier 12 Stunden nach der Injektion; ferner wurde ein Meerschweinchen durch die letale Dosis eines Diphtherietoxins, 0,03 ccm, getötet; es starb am dritten Tage nach der Injektion. Die Lebern dieser Tiere wurden wie im vorigen Versuch in Wägegläschen aufgestellt. Alle paar Tage wurde 1 bis 2 ccm abfitriert und spektroskopisch auf Oxyhämoglobin geprüft. Die spektroskopische Untersuchung der Filtrate ergab die Anwesenheit von Oxyhämoglobin:

Leber der normalen Ratte	12. 3. deutlich (makroskopisch rot)	16. 3. Schmaler Streifen im Grün, das blaue Ende des Spektrums ausgelöscht (makroskopisch hellgelb)	20. 3. Kein O-hämoglobin-Streifen, das blaue Ende des Spektrums verdunkelt (makroskopisch hellgelb)
Leber der Phosphor-Ratte	12. 3. deutlich (makroskopisch tiefrot)	16. 3. deutlich (makroskopisch tiefrot)	20. 3. deutlich (makroskopisch tiefrot)
Leber der Arsen-Ratte	12. 3. deutlich (makroskopisch tiefrot)	16. 3. deutlich (makroskopisch tiefrot)	20. 3. Ein Streifen deutlich, der zweite spurweise vorhanden. Der gleiche Befund am 28. 3., am 31. 3. auch der erste Streifen nur noch spurweise (makroskopisch rosarot) 8. 4. null
Leber der Chloroform-Ratte	12. 3. deutlich (makroskopisch rot)	16. 3. deutlich	20. 3. deutlich
Leber d. normal. Meerschweinch.	12. 3. deutlich (makroskopisch rot)	16. 3. deutlich (makroskopisch lichtrot)	20. 3. spurweise (makroskopisch gelblich)
Leb. d. Diphther.-Meerschweinch.	12. 3. deutlich	16. 3. deutlich	20. 3. deutlich der gleiche Befund am 31. 3. und am 4. 4.

III. Versuchsreihe.

In den folgenden Versuchen wurden Lebern wie in den früheren aufgestellt; von Zeit zu Zeit wurden einige Kubikzentimeter abfiltriert und in je 0,2 ccm des Filtrats der Hämoglobingehalt nach Fleischl bestimmt. Wir zeichnen den jeweiligen Hämoglobinbefund in den untenstehenden Kurven ein.

Es wurden die Lebern folgender Tiere beobachtet: Eine Ratte wurde durch Nackenschlag getötet; eine zweite durch Äther, eine dritte durch Chloroformnarkose, eine vierte durch Injektion von 0,01 ccm Strychnicum nitricum, sie starb eine Stunde nach-

Ratte, durch Nackenschlag getötet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Ratte, in Äthernarkose getötet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Ratte, in Chloroformnarkose getötet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Ratte, mit Phosphor vergiftet. Zahl d. Tage d. Autolyse

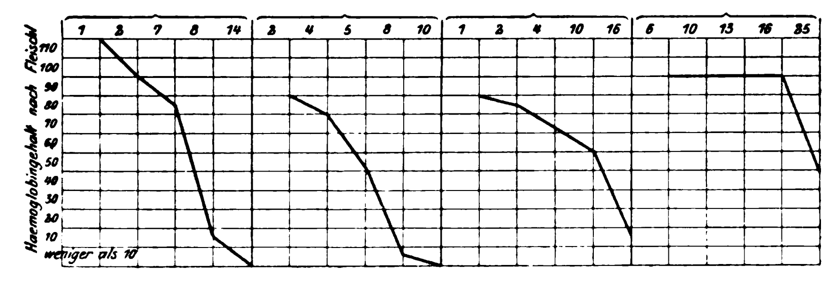


Fig. 1.

Ratte, mit Arsen vergiftet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Ratte, mit Strychnin vergiftet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Ratte, mit Coffein vergiftet. Zahl d. Tage d. Autolyse | Normales Kaninchen durch Nackenschlag getötet. | Gravides Kaninchen durch Nackenschlag getötet.

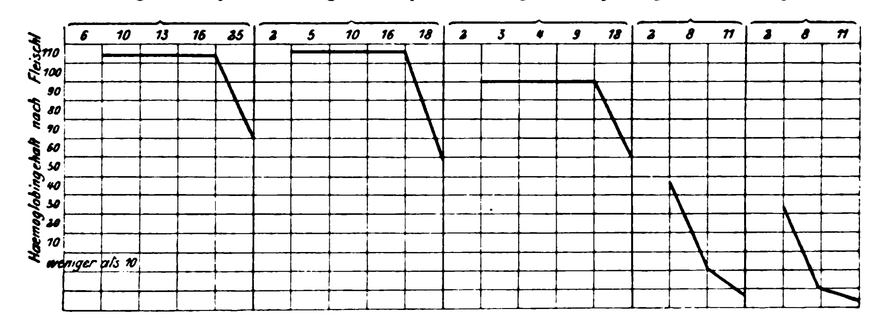


Fig. 2.

her; einer Ratte wurde 0,1 ccm Coffeinum natrio benzoicum injiziert, sie starb 10 Stunden später; eine wurde mit 0,5 ccm Acidum arsenicosum vergiftet, eine mit 0,2 ccm Phosphoraufschwemmung. beide lebten einen halben Tag; ferner wurde die Leber eines gesunden und eines graviden Kaninchens aufgestellt. Beide Kaninchen wurden durch Nackenschlag getötet.

Über den qualitativen Nachweis des Harnzuckers.

Von

Gösta Bohmansson.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 7. Juni 1909.)

Für den qualitativen Nachweis des Harnzuckers — eine der wichtigsten chemischen Untersuchungen des praktischen Arztes — kommen in erster Linie die Reduktionsproben in Betracht, und zwar hauptsächlich die Almén sche Wismutprobe und die Kupferproben nach Trommer, Fehling, Worm-Müller u. a.

Beim Vorkommen eines etwas größeren Zuckergehaltes im Harne ist dieser Nachweis äußerst einfach, und jede Probe führt hier zum Ziel. Ganz anders verhält sich aber die Sache, wenn man nur eine schwache oder zweifelhafte Reduktion erhält. Dies kann zwar anzeigen, daß Spuren oder kleine pathologische Mengen von Zucker vorliegen. Anderseits steht noch die Möglichkeit offen, daß andere reduzierende Substanzen als Zucker die Reduktion bewirkt haben, indem auch der normale Harn solche bisweilen enthalten kann.

In solchen Fällen kann die Entscheidung schwer fallen. Da nun aber eine solche Entscheidung von großer praktischer — bisweilen auch wissenschaftlicher — Bedeutung sein kann, z. B. für eine Lebensversicherung, so ist es wichtig, darüber klar zu werden, ob ein vermehrter pathologischer Zuckergehalt vorliegt oder nicht. Die normalen Spuren von Zucker im Harne geben bekanntlich mit den gewöhnlichen Reagenzien keinen Ausschlag. Wenn es sich aber erweisen sollte, daß unsere Methoden hierzu unzureichend sind, wird es eine dankbare Aufgabe sein, eine zuverlässige Methode ausfindig zu machen.

Daß diese Verhältnisse keineswegs gleichgültig sind, zeigt z. B. die scharfe Polemik zwischen so hervorragenden Forschern wie Hammarsten[1]) und Pflüger[2]), welche zu dem Ergebnisse führte, daß Hammarsten die Kupferproben als wenig zuverlässig beurteilte und Pflüger vice versa die Wismutprobe. Es ist aber zu bemerken, daß Hammarsten zugegeben hat, daß die Alménsche Probe bisweilen fehlschlagen kann, d. h. einen positiven Ausschlag ohne Gegenwart von Zucker zeigen kann, während nach Pflüger die Kupferprobe in Worm-Müllers[3]) Modifikation immer zum Ziele führt.

Nun ist es aber bekannt, daß mehrere normale Harnbestandteile Kupferoxydhydrat in alkalischer Lösung reduzieren, hauptsächlich Kreatinin und Harnsäure. Hierzu kommen noch die normalen Spuren von Traubenzucker und die sogenannte Restreduktion Lavessons, welch letztere unbekannten Körpern entspricht. Jeder normale Harn muß demgemäß Kupferoxydhydrat reduzieren. Nach Lavesson[4]) entspricht die totale Reduktion des normalen Harnes etwa 0,2°/₀. Wenn nun Pflüger trotzdem die Worm-Müllersche Probe als zuverlässig ansieht, kann er sich nur darauf stützen, daß der Harn Stoffe enthält, welche das gebildete Cu_2O in Lösung halten — vor allem das Ammoniak. Auch unter der Restreduktion kommen Stoffe vor, welche sowohl reduzieren als auch das Cu_2O in Lösung halten. Es ist aber ganz klar, daß man unmöglich davon ausgehen kann, daß nur so viel von diesen Stoffen vorkommt, als für das durch fremde Substanzen gebildete Cu_2O gelöst wird, während kleine Zuckermengen eine Oxydulausscheidung bewirken sollen. Im Gegenteil kommen gar nicht zu selten Harne vor, bei welchen sogar ziemlich große Quantitäten Cu_2O in Lösung gehalten werden. Wenn man dann wie bei der Worm-Müllerschen Probe mit einem Überschuß von $Cu(OH)_2$ arbeitet, resultiert eine opalescierende gelbgrüne Lösung ohne eine Spur von ausgeschiedenem Cu_2O trotz reichlichem Vorkommen von Zucker.

---

[1]) O. Hammarsten, Pflügers Archiv 116. — Zeitschr. f. physiol. Chem. 50.

[2]) Pflüger, Schöndorf, Wenzel, Pflügers Archiv 105. — Pflüger, ebenda 116. — Pflüger, Das Glykogen, 2. Aufl.

[3]) Worm-Müller, Pflügers Archiv 27.

[4]) Diese Zeitschr. 4, 40.

Die Kupferproben sind also in zwei Richtungen mit Fehlern behaftet. Erstens bewirken mehrere andere Körper als Zucker eine Reduktion, und zweitens kommen solche Körper in variierender Menge vor, welche das Cu_2O in Lösung halten. Es wird demgemäß mehr oder weniger ein Zufall sein, wann diese nur von Zucker bewirkte Ausscheidung von Cu_2O vorkommt. (Beim reichlichen Zuckergehalte ist, wie bemerkt, die Kupferprobe gewöhnlich bequem und zuverlässig.)

Die Wismutprobe ist nun entschieden sämtlichen Kupferproben deshalb überlegen, weil einerseits die Harnsäure und das Kreatinin hier indifferent sind, und auf der anderen Seite das reduzierte Wismut niemals in Lösung gehalten wird. Man bekommt also überall einen schwarzen Niederschlag. Leider kommt es aber nicht allzu selten vor, daß eine Reduktion auftritt, welche auch nach der Gärung sich unverändert zeigt und folglich nicht Traubenzucker entsprechen kann. Es verdient aber ausdrücklich hervorgehoben zu werden, daß solche Harne auch immer mit den Kupferproben recht starke Reduktion zeigen.

Bei solchen Fällen, wenn also sämtliche Reduktionsproben versagen, ist der Nachweis von Zucker jedenfalls nicht einfach, und eine Ausarbeitung eines einfachen und zuverlässigen Verfahrens ist also keineswegs überflüssig.

Ich habe deswegen nach der Aufforderung Prof. Bangs Versuche in verschiedenen Richtungen angestellt, welche schließlich zum Ziele geführt haben, und werde im folgenden die Ergebnisse mitteilen.

Da die Verbindungen, welche außer Zucker Alméns Probe reduzieren — und wir werden uns hier hauptsächlich mit dieser Reduktionsprobe beschäftigen — völlig unbekannt sind, haben wir von vornherein keine Ausgangspunkte für die Untersuchung. Es war also notwendig, durch systematische Untersuchungen die verschiedenen sich darbietenden Möglichkeiten zu berücksichtigen. Hierzu wurden überall solche praktisch zuckerfreien Harne verwendet, welche trotzdem Almén reduzierten. Wenn die betreffenden Substanzen von kolloidaler Natur wären, könnte man voraussichtlich durch Verwendung von kolloidfällenden Mitteln zum Ziele kommen. Von solchen kamen in erster Linie Kaolin und kolloidales Eisenoxyd, welche

beiden nach Michaelis und Rona[1]) für die Blutzuckerbestimmung vorzügliche Dienste leisten, in Betracht.

Indessen stellte sich heraus, daß die Alménsche Reaktion nach Behandlung sowohl mit Kaolin wie Eisenoxyd fortwährend positiv ausfiel. Durch Titration nach Bang[2]) vor und nach Schütteln mit Kaolin wurde erwiesen, daß das Kaolin so gut wie keine Verminderung der Totalreduktion bewirkte, während $Fe(OH)_3$ eine etwas geringere Reduktion als ursprünglich veranlaßte. Trotzdem war die Alménsche Probe ungefähr ebenso stark wie vorher. Man kann wohl hieraus die Folgerung ziehen, daß der betreffende Körper kaum ein Kolloid darstellt.

Weiter war es denkbar, daß die reduzierenden Verbindungen des Harnes viel leichter oxydabel wären als der Traubenzucker. In solchem Falle dürfte man durch eine vorsichtige Oxydation z. B. durch Jod oder Wasserstoffsuperoxyd, welche nicht dem Zucker schaden, zum Ziele kommen. Beide waren aber vollständig wirkungslos.

Als drittes Verfahren wurde versucht, die betreffenden Substanzen durch verschiedene Metallsalze zu entfernen. Von solchen Salzen kamen vorzugsweise die von Kupfer, Blei, Zink, Cadmium und Aluminium in Betracht. Inzwischen hatte Andersen[3]) Hg-Salze mit gutem Erfolge verwendet. Sämtliche Salze bewirkten zwar eine Verminderung der Totalreduktion, dagegen waren die qualitativen Reduktionsproben fortwährend positiv.

Während dieser Untersuchung erschien eine Arbeit von Michaelis und Rona[4]), in welcher erwähnt wird, daß Tierkohle bei Gegenwart von Aceton bzw. Essigsäure bis 10% keinen Zucker absorbiert. Da nun bekanntlich die Tierkohle den Harn gut entfärbt, wurden dieselbe für meinen Zweck zur Untersuchung herangezogen.

Zuerst wurden die Ergebnisse von Michaelis und Rona bestätigt, daß Tierkohle bei Gegenwart von Aceton und Essigsäure aus einer reinen Zuckerlösung keinen Zucker absorbiert. Alkohol läßt sich mit demselben Erfolg verwenden. Sowohl

---

[1]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 7, 361 und 8, 356.

[2]) J. Bang, diese Zeitschr. 2, 271.

[3]) A. C. Andersen, diese Zeitschr. 15, 1.

[4]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 16, 6.

feuchte Tierkohle (der Wassergehalt wurde bestimmt) als trockene wurde verwendet. Zweitens wurde festgestellt, daß bei denselben Versuchsbedingungen kein Zucker aus dem Harn entfernt wurde: Ein Harn wurde vor und nach der Gärung titriert; er enthielt in 10 ccm 30,8 mg ÷ 27,7 mg = 3,1 mg Dextrose. Weiter wurde mit 10 % feuchter Tierkohle und 10 % Sprit vor und nach der Gärung titriert und gefunden: 22,1 mg ÷ 18,6 mg = 3,5 mg Dextrose.

Außer Sprit, Aceton und Essigsäure läßt sich Salzsäure mit gutem Erfolg verwenden. Aus der folgenden Tabelle ist ersichtlich, daß ein HCl-Gehalt von 5 %, nicht aber von 2 %, gegen die Absorption von 10 % Tierkohle vollständig schützt.

Tabelle I.

10 ccm Zuckerlösung + HCl in %	Tierkohle in %	Totalreduktion in mg	Verminderung in mg	Verminderung in %
0	0	41,5	—	—
2	10	40,0	1,5	3,6
5	10	41,4	0,1	0
0	0	47,0	—	—
5	10	46,6	6,4	0,8
0	0	26,1	—	—
5	10	26,2	0	0
0	0	12,6	—	—
5	10	12,4	0,2	1,5

Weiter wurde erwiesen, daß Tierkohle bei Gegenwart von 5 % HCl keinen Zucker aus dem Harne absorbiert. Ein Harn entsprach vor und nach der Gärung 28,1 mg bzw. 20,9 mg und enthielt also 7,2 mg Zucker auf 10 ccm. Derselbe Harn, mit Tierkohle + 5 % HCl geschüttelt, zeigte 16,7 mg bzw. 9,6 mg, also 7,1 mg Dextrose. Zu demselben Harne wurde Traubenzucker bis 0,582 % zugesetzt. Vor und nach der Gärung = 79 mg — 20,8 mg = 58,2 mg Zucker und mit Tierkohle + HCl 67,2 mg — 10,0 mg = 57,2 mg Zucker.

Die Salzsäure verhindert also ebensogut wie Alkohol, Aceton und Essigsäure die Absorption. Dagegen ist die Salzsäure aus dem Grunde vorzuziehen, weil sie mit Tierkohle den Harn viel besser entfärbt. Gewöhnlich bekommt man nach dem Schütteln mit Salzsäure + Tierkohle ein ganz ungefärbtes,

wasserklares Filtrat,[1]) während nach der Alkohol-Tierkohlebehandlung das Filtrat gelb ist. Für die Praxis ist auch die Salzsäure einfacher. Hierzu kommt ferner, was allerdings für die quantitative Zuckerbestimmung größere Bedeutung hat, daß die totale Eigenreduktion des Harnes wesentlich mehr vermindert wird als nach Verwendung von Alkohol. (Hierüber wird anderswo näher eingegangen.)

Fragen wir zuletzt, in welcher Weise die Salzsäure, bzw. der Alkohol die Schutzwirkung gegen die Absorption ausübt, so hat es sich herausgestellt, daß man durch Auskochen der Tierkohle mit Salzsäure, bzw. mit Alkohol ihr die Fähigkeit einer Zuckerabsorption vollständig rauben kann. Es muß dementsprechend zweifelhaft sein, ob wir es hier mit einer physikalischen Absorption zu tun haben oder ob man nicht eher an eine chemische Verbindung zwischen Verunreinigungen der Kohle und Zucker zu denken hat.

Gehen wir jetzt zu der wichtigsten hier interessierenden Frage über, inwieweit man durch Verwendung von Tierkohle mit Salzsäure oder Alkohol die Verbindungen aus dem Harne entfernen kann, welche zu der falschen Zuckerreaktion mit der Alménschen Probe Veranlassung geben. Meine Untersuchungen hierüber haben das Resultat gegeben, daß dies immer der Fall ist. Ich erlaube mir zuerst meine Versuche hierüber tabellarisch mitzuteilen.

Tabelle II.

Harn Nr.	Spez. Gew.	Farbe	Almén a) vor Gärung	Almén b) nach Gärung	Almén nach Schütteln mit 10% Tierkohle und a) Alkohol 10%	Almén nach Schütteln mit 10% Tierkohle und b) Salzsäure 5%
1	1022	Gelb	+ ?	+ ?	0	0
2	1027	Gelbrot	+	+ ?	0	0
3	1028	Gelbrot	+	+	0	0
4	1029	Orange	+	+	0	0
5	1020	Gelb	+	+	0	0
6	1026	Braungelb	+ ?	+ ?	0	0
7	1029	Rotbraun	+	+	+	+
8	1032	Dunkelgelb	+	+	0	0
9	1026	Dunkelgelb	+	+	+	+
10	1031	Dunkelgelb	+	+	0	0

[1]) Bisweilen sind die Harne rötlich gefärbt (indoxyl- bzw. skatoxylreiche Harne).

Tabelle II (Fortsetzung).

Harn Nr.	Spez. Gew.	Farbe	Almén a) vor Gärung	Almén b) nach Gärung	Almén nach Schütteln mit 10% Tierkohle und a) Alkohol 10%	Almén nach Schütteln mit 10% Tierkohle und b) Salzsäure 5%
11	1027	Dunkelgelb	+	+	0	0
12	1022	Rotgelb	+	+	+	+
13	1021	Dunkelgelb	+	+	+	+
14	1026	Dunkelgelb	+	+	0	0
15	1023	Braungelb	+	+	+	+
16	1032	Rotgelb	+	+	0	0
17	1022	Rotbraun	+	+	0	0
18	1027	Dunkelgelb	+	+	0	0
19	1023	Rotbraun	+	+	0	0
20	1020	Orange	+	+	0	0

Von den Harnen enthielten Nr. 1 und 2 Eiweiß, welches zuerst durch die Kochprobe entfernt wurde. Von den 20 Harnen, welche sämtliche stark gefärbt und konzentriert waren (die meisten stammten von Fieberpatienten, und Patienten mit Herzfehlern her), haben alle eine positive Alménsche Probe sowohl vor wie nach der Gärung gegeben. Nach dem Schütteln mit Tierkohle und Salzsäure bzw. Alkohol haben die meisten, mit Ausnahme von Nr. 7, 9, 12, 13 und 15, eine negative Reaktion gezeigt. Untersuchen wir nun aber die 5 Fälle, welche auch nach dem Schütteln mit Kohle eine positive Reaktion ergaben, so hat es sich herausgestellt, daß sämtliche einen vermehrten Zuckergehalt besaßen, wie aus der Tabelle III ersichtlich ist.

Tabelle III.

Harn Nr.	Totale Reduktion von 10 ccm Harn a) vor der Gärung	Totale Reduktion von 10 ccm Harn b) nach der Gärung	Zuckergehalt in mg auf 10 ccm Harn
7	33,2	22,4	10,8
9	30,2	23,3	6,9
12	28,1	20,9	7,2
13	37,0	25,4	11,6
15	41,0	26,4	14,6

Nach Lavesson[1]) ist der durchschnittliche Zuckergehalt bei normalen Individuen 4,0 mg auf 10 ccm Harn. Der durchschnittliche Zuckergehalt von meinen 20 Harnen war 5,1 mg, was also sehr gut mit Lavessons Werten übereinstimmt, wenn man den pathologisch vermehrten Zuckergehalt von den 5 hier

[1]) Diese Zeitschr. 4, 40.

mitgerechneten Harnen berücksichtigt. Es ist also gut verständlich, daß bei den erwähnten Harnen die Reaktion auch nach Schütteln mit Tierkohle positiv ausfiel, und diese Tatsache bildet nach meiner Ansicht eine besonders gute Bestätigung für die Brauchbarkeit meines Verfahrens.

Da nun weiter überall die Alménsche Probe bei den 5 Harnen nach der Gärung und Schütteln mit Tierkohle + Salzsäure, bzw. Alkohol vollständig negativ ausfiel, ist dadurch der exakte Beweis für die Richtigkeit der gegebenen Auffassung geliefert. Bei diesen Harnen dürfte es auch sehr schwer sein, nach jeder anderen Methode zu entscheiden, inwieweit Zucker vorlag oder nicht. Denn wenn die Alménsche Probe vor und nach der Gärung (ohne Schütteln mit Kohle) positiv ausfiel, lag die Folgerung sehr nahe, daß die Harne ihre Reduktion fremden Stoffen verdankten. Die Möglichkeit, daß neben solchen Substanzen auch kleine, aber doch pathologisch vermehrte Zuckermengen vorliegen könnten, wäre überhaupt einer Untersuchung nicht zugänglich, d. h. wenn man dann nicht den Zucker vor und nach der Gärung quantitativ bestimmte.

Ein Einwand bleibt noch zu beseitigen. Wenn man durch Salzsäure, Alkohol und feuchte Tierkohle den Harn etwas verdünnt, wäre denkbar, daß in der Verdünnung eben der Erfolg zu suchen sei. Dies trifft aber tatsächlich nicht zu, wie mir vergleichende Untersuchungen erwiesen haben.

Es fragt sich dann weiter, wie sich die Harne nach Schütteln mit Kohle gegenüber den übrigen Reduktionsproben, besonders den Kupferproben, verhalten. Es hat sich folgendes Ergebnis herausgestellt: Bei den Harnen Nr. 2, 3, 5, 8, 9, 10, 13, 17 und 20 oder insgesamt in 9 Harnen = 45% war die Worm-Müllersche Probe negativ. Bei sämtlichen übrigen oder 55% dagegen positiv, und zwar bei Nr. 1, 7 und 16 mit Ausscheidung von Oxydul, bei den übrigen wurde die Lösung grün bis gelb gefärbt, aber ohne Ausscheidung von Oxydul. Hieraus ist also ersichtlich, daß die Worm-Müllersche Probe — die beste der Kupferproben — oft einen positiven Ausschlag gibt, wenn kein pathologisch vermehrter Zuckergehalt vorliegt. Z. B. enthielt Nr. 1 0,015% Dextrose, Nr. 4 0,029%, Nr. 11 0,043%, Nr. 14 0,042%, Nr. 16 0,046%, Nr. 18 0,046% und Nr. 19 0,039%.

Andererseits kommen auch solche Fälle vor, in welchen trotz

relativ reichlichem Zuckergehalt und demgemäß positiver Alménscher Probe die Worm-Müllersche Probe keinen Zuckergehalt erwiesen hat. Beim Harne Nr. 9 war der Zuckergehalt 0,069 °/₀ und bei Nr. 13 0,116 °/₀, und die Worm-Müllersche Probe war dessenungeachtet vollständig negativ. Diese Tatsache stimmt mit den Angaben Hammarstens[1]) völlig überein, daß man bisweilen trotz Zusatz von Zucker zum Harne doch eine negative Worm-Müllersche Reaktion erhält.

Man muß demgemäß nach den obigen Versuchen Hammarsten beistimmen, wenn er die Kupferproben als unzuverlässig bezeichnet, indem man auf der einen Seite trotz Schütteln mit Tierkohle + Salzsäure eine positive Worm-Müllersche Reaktion ohne Zucker und andererseits eine negative Reaktion bei vermehrtem Zuckergehalt erhalten kann.

Da nun aber die Alménsche Probe sich bei den gegebenen Versuchsbedingungen als zuverlässig erwiesen hat, ist es ganz klar, daß die Harne verschiedene Substanzen enthalten müssen, welche zwar das Kupferoxyd nicht, aber das Wismutoxyd reduzieren. Es fragt sich dann zuletzt, welche Stoffe werden durch die Tierkohle entfernt, und welches sind die Verbindungen, die mit der Alménschen Probe außer Zucker reagieren. Da Harnsäure und Kreatinin mit Worm-Müller, nicht aber mit Almén reagieren, wäre es denkbar, daß dieselben nicht absorbiert werden und im Filtrate die falsche Kupferreaktion bewirken. Dieses ist aber nicht der Fall. Von Harnsäure werden ca. 80 °/₀ und von dem Kreatinin ca. 70 °/₀ absorbiert. Wenn also dessenungeachtet die Kupferprobe mit dem Filtrate fortwährend positiv reagiert, muß folglich der Harn auch andere Verbindungen enthalten, welche zwar mit Kupferoxyd, nicht aber mit Wismutoxyd reagieren, und welche Körper nicht absorbiert werden.

Wenn man zuletzt nach der Natur der Verbindung fragt, welche auch bei der Alménschen Probe reduziert, so haben wir den Ausgangspunkt, daß der Harn entfärbt wird. Es bleibt also zu untersuchen, inwieweit die Farbstoffe des Harnes von Bedeutung sind. In erster Linie kommt hier das Urochrom in

[1]) O. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50 und Pflügers Archiv 116.

Betracht, da Hohlweg[1]) für dasselbe eine positive Molischsche Reaktion erwiesen hat. Ich habe demgemäß das Urochrom nach dem Verfahren von Hohlweg[2]), Salomonsen und Mancini[3]) dargestellt, nur mit dem Unterschied, daß ich zuerst den Zucker durch Gärung entfernte. (Das Urochrom wird nämlich hierbei durch Tierkohle absorbiert und später durch Behandlung mit Eisessig wieder ausgelöst. Es ist klar, daß die physiologischen Spuren von Traubenzucker überall dem Urochrom folgen müssen.)

Das dargestellte Urochrom gab nun mit Almén erst Braunfärbung mit folgendem schwarzem Niederschlag und mit Worm-Müller reichlichen Niederschlag von Oxydul. Hiermit ist also bewiesen, daß Urochrom reduzierend wirkt, und wenn der normale Harn eine positive Alménsche Reaktion gibt, wird dies in erster Linie vom Urochrom bewirkt. Dies Urochrom läßt sich aber bequem durch Tierkohle + Salzsäure, bzw. Alkohol entfernen.

Die Methode, welche ich demgemäß für den qualitativen Nachweis des Harnzuckers empfehlen darf, gestaltet sich folgendermaßen:

Etwa 10 ccm Harn werden mit $^1/_5$ Vol. $25^0/_0$iger HCl und ca. 1 Vol. feuchter Tierkohle[4]) (oder $^1/_2$ Vol. trockener) versetzt und ca. 1 Minute geschüttelt und danach filtriert. Mit dem Filtrate wird die Almén sche Probe angestellt, nachdem man dasselbe zuerst mit ein paar Kubikzentimetern Natronlauge ungefähr neutralisiert hat.

Fasse ich die Ergebnisse meiner Untersuchung zusammen, so hat sich herausgestellt:

1. Durch Schütteln mit Tierkohle und Salzsäure, bzw. Alkohol wird kein Zucker absorbiert.

2. Dagegen werden mehrere andere Harnbestandteile absorbiert, und zwar diejenigen, welche eine falsche Almén sche Reaktion veranlassen.

3. Diese Körper sind mit dem Urochrom identisch.

4. Die Kupferproben sind entgegen Pflügers Auffassung für den qualitativen Nachweis unbrauchbar, da andere unbekannte Körper, welche nicht entfernt werden können, eine falsche positive Reaktion geben.

---

[1]) H. Hohlweg, diese Zeitschr. 18, 3 und 4.

[2]) K. E. Salomonsen, diese Zeitschr. 13, 3 und 4.

[3]) St. Mancini, diese Zeitschr. 13, 3 und 4.

[4]) Knochenkohle (feucht) zur Entfärbung von Kahlbaum habe ich für meine Untersuchungen verwendet.

Über den Einfluß des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit auf die Vitalität der Spermatozoen.

Von

Waichi Hirokawa, Tokio.

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Professors Dr. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

I. Einleitung und Versuchsmethodik.

Bekanntlich mengt sich der Samenflüssigkeit während der Ejaculation das Sekret der sog. akzessorischen Geschlechtsdrüsen, nämlich der Samenblasen, der Prostata und der Cowperschen Drüsen bei und wird die normale Funktion derselben von der Mehrzahl der Physiologen als notwendige Vorbedingung für einen normalen Ablauf des Zeugungsaktes angesehen. Die Frage jedoch, welche Rolle diesen Drüsensekreten dabei tatsächlich zukommt, ist noch sehr wenig geklärt.

Eine kurze Bemerkung über die günstige Wirkung derartiger Drüsensekrete auf die Lebhaftigkeit und Dauer der Samenbewegungen findet sich bei Köllicker[1]), der das Sekret des sog. Uterus masculinus des Kaninchens und der menschlichen Samenblasen in bezug auf sein Verhalten gegen verschiedene Spermatozoen geprüft hat.

Was speziell die Prostata betrifft, ist, wie es scheint, durch eine Beobachtung Fürbringers[2]) ein direkter Anhaltspunkt für die Annahme gewonnen worden, daß das Sekret dieser Drüse Substanzen enthalte, welche die Vitalität der Spermatozoen im günstigen Sinne beeinflussen. Fürbringer beobachtete nämlich, daß die spontan entleerten Spermatozoen in der Samenflüssigkeit eines an Defäkationsspermatorrhoe leidenden Patienten unbeweglich waren, während sich nach normaler Ejaculation bei demselben Individuum die Samenfäden

---

[1]) Köllicker, Physiologische Studien über die Samenflüssigkeit. Zeitschr. f. wiss. Zoologie 7, 208, 1856.

[2]) Fürbringer, Über Prostatafunktion und ihre Beziehung zur Potentia generandi der Männer. Berl. klin. Wochenschr. 1886, 477.

lebhaft beweglich fanden. Daher meint der genannte Autor, „daß das frische Sekret der Drüsenzellen der Prostata . . . imstande ist, das in den Spermatozoen schlummernde Leben vermöge spezifischer vitaler Eigenschaften auszulösen und ihnen, sit venia verbo, das sichtbare Leben zu geben.“

Eine direkte experimentelle Begründung fand diese Ansicht durch die interessanten Beobachtungen Steinachs[1]) an den Samenfäden verschiedener Nager (Kaninchen, Meerschweinchen, Maus, Ratte). „Durchschnittlich am wirksamsten fand ich“, schreibt Steinach, „das mit wenigen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung vermischte Prostatasekret. Dasselbe erhält die Bewegungen nicht allein sehr lange, sondern auch am längsten lebhaft. Sehr günstig wirkt ferner ein etwas stärker verdünntes Gemenge aus den Sekreten der Glandulae vesiculares und prostaticae . . . Im allgemeinen kann man sagen, daß bei Vermeidung von Verdunstung und Abkühlung die Präparate der Spermatozoen ihre Beweglichkeit und ihr normales Aussehen in dem Sekretgemisch 7- bis 10 mal länger erhielten, als in reiner physiologischer Kochsalzlösung, welche an und für sich zu den die Bewegung fördernden Mitteln zu rechnen ist.“

Weiterhin gelangte Walcker[2]) auf Grund seiner Beobachtungen am Hundesperma zu der Annahme, daß die Verdünnung des Hodensekretes mit dem Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen, insbesondere der Prostata, den unmittelbaren Anstoß zur Bewegung der Samenfäden bilde. Die Fortdauer der Bewegung über längere Zeiträume sei jedenfalls darauf zurückzuführen, daß der Prostatasaft Stoffe enthält, welche entweder erregend auf die Samenfäden wirken oder für dieselben Nährmaterial sind.

Während Finger[3]) die anregende Wirkung des Prostatasekretes auf die Bewegungen der Samenfäden mit der sauren Reaktion des normalen Sekretes in Zusammenhang bringt, spricht Casper[4]) gerade die gegenteilige Ansicht aus. Er meint, da nach jeder Harnentleerung etwas Urin in der Urethra zurückbleibt, müßte die Lebensfähigkeit der Spermatozoen durch die Berührung mit den sauer reagierenden Urethralwänden geschwächt werden und sei es Aufgabe der Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen, die Urethralwand nicht nur schlüpfrig, sondern auch alkalisch zu machen.

---

[1]) E. Steinach, Untersuchungen zur vergleichenden Physiologie der männlichen Geschlechtsorgane, insbesondere der akzessorischen Drüsen. Pflügers Archiv 56, 330, 1894.

[2]) Walcker, Beitrag zur Kenntnis der Anatomie u. Physiologie der Prostata, nebst Bemerkungen über den Vorgang der Ejaculation. Arch. f. Anat. (u. Physiol.) 1899, 340.

[3]) Finger, Die Störungen der Geschlechtsfunktion des Mannes. Handb. d. Urologie 3, 999, 1906.

[4]) Casper, Funktionelle Störungen des Sexualapparates. Lehrb. d. Urologie 1903, S. 441.

Nach Fürbringer[1]) ist die Reaktion des frischen Sekretes der lebenden Prostata amphoter oder schwach sauer; nach Pöhl[2]) ist dagegen das Sauerwerden des Sekretes eine postmortale Erscheinung. Lohnstein[3]) leugnet auf Grund zahlreicher titrimetrischer Bestimmungen an pathologischen Prostatasekreten (Phenolphthalein als Indicator) einen merkbaren Einfluß der Reaktion des Prostatasekretes auf die Lebensfähigkeit der Spermatozoen, während wiederum Pezzoli[4]), der mit Hilfe von Lackmus titrierte, einen gewissen Parallelismus zwischen dem Alkalescenzgrade und der Vitalität der Samenfäden bemerkt zu haben glaubte.

Wie aus dem Mitgeteilten hervorgeht, ist also über die Natur jenes Bestandteiles des Prostatasekretes, welches die günstige Wirkung auf die Vitalität der Spermatozoen ausübt, nichts bekannt. Ich bin daher, an die Aufgabe herangetreten, eine Ausfüllung dieser Wissenslücke zu versuchen.

Einige Worte über die von mir angewandte Versuchsmethodik mögen der Schilderung der Experimente vorausgeschickt werden.

Was zunächst die Auswahl des Versuchsmaterials betrifft, haben wir uns nach einer Reihe orientierender Versuche an den Sexualorganen von Stieren, Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten für die letztere Tiergattung entschieden.

Eine Reihe von Gründen haben uns zu dieser Wahl bestimmt.

Zunächst die gute Entwickelung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen[5]) bei der Ratte, welche es leicht gestattet, Prostata und Samenblasen getrennt zu entnehmen. Ferner der Umstand, daß die

---

[1]) Fürbringer, Untersuchungen über die Herkunft u. klinische Bedeutung der sogenannten Spermakrystalle usw. Zeitschr. f. klin. Med. 3, 299, 1881.

[2]) Pöhl, Die physiologisch-chemischen Grundlagen der Spermintheorie, St. Petersburg, 1903, S. 16.

[3]) Lohnstein, Über die Reaktion des Prostatasekretes bei chronischer Prostatitis und ihren Einfluß auf die Lebensfähigkeit der Spermatozoen. Deutsche med. Wochenschr. 1900, 844.

[4]) Pezzoli, Über die Reaktion des Prostatasekretes bei chronischer Prostatitis. Wiener klin. Wochenschr. 1902, 699.

[5]) Auch beim Hunde ist die Prostata gut entwickelt, und läßt sich das dickflüssige, alkalisch reagierende Sekret derselben durch Auspressen gewinnen. Bei der Katze ist die Prostata ganz klein, und ist es sehr schwer, ihr Sekret zu erhalten. Die Samenblasen fehlen bei Carnivoren. Beim Stiere sind Prostata und Samenblasen nicht selbständig entwickelt; er hat nur sogenannte „falsche Samenblasen", deren Zusammenhang mit der Prostata auf histogenetischem Wege festgestellt worden ist.

Reifung der Samenzellen nicht auf eine bestimmte Brunstzeit beschränkt ist, sich vielmehr während des ganzen Jahres abspielt. Endlich bildete die Größe der Spermatozoen, welche diejenige der anderen hier in Betracht kommenden Säugetiere übertrifft und eine Beobachtung bereits bei schwacher Vergrößerung gestattet, für unsere Versuche einen Faktor von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit.

Bei der Ratte ist die Übergangsstelle des Nebenhodenschwanzes in den Samenleiter birnförmig erweitert und erscheint diese Ampulle stets reichlich von Sperma erfüllt. Dieselbe wurde herauspräpariert, in ein kleines Gläschen mit physiologischer Kochsalzlösung übertragen (meist je einem Nebenhoden entsprechend 1 ccm derselben) und darin mit Hilfe einer scharfen Schere zerkleinert. Die so erhaltene milchige Samenemulsion wurde durch ein Seidenfilterchen koliert und von gröberen Gewebsfetzen befreit und bildete ein bequem abmeßbares und für Parallelversuche mit verschiedenen Zusätzen geeignetes Ausgangsmaterial.

Zur Gewinnung des Prostatasekretes wurde die Drüse herauspräpariert und in ein kleines Gefäß übertragen; allmählich sickerte der (gegen Lackmuspapier deutlich alkalisch reagierende) Saft heraus. Derselbe wurde mit physiologischer Kochsalzlösung entsprechend verdünnt.

Es ist zu beachten, daß, wenn die Ratte durch einen Schlag auf den Kopf getötet wird, es leicht zu einer spontanen Entleerung von Sperma und Prostatasekret kommt. Es empfiehlt sich daher, die Ratten lieber durch Chloroform zu töten. Eine Schädigung der Vitalität der Spermatozoen durch das Gift ist dabei nicht zu befürchten.

Die Beobachtung der Spermabewegungen erfolgte stets im hängenden Tropfen unter Anwendung eines Vaselinverschlusses.

Da Walcker[1]) seine Beobachtungen mit Hilfe eines heizbaren Objekttisches bei 34 bis 38° ausgeführt hatte, habe ich den Einfluß der Brutofen- und Zimmertemperatur auf die Bewegungen der Samenfäden verglichen. Es stellte sich heraus, daß sich die Samenfäden im Brutofen lebhafter bewegen, ihre Bewegungen aber viel früher einstellen. Ich habe es im allgemeinen vorgezogen, bei Zimmertemperatur zu beobachten.

II. Vorversuche über die Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung und anderer isosmotischer Lösungen.

Bevor wir auf unser eigentliches Thema eingehen, ist es notwendig, eine Reihe von Vorversuchen zu erwähnen, welche die Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung und anderer isosmotischer Lösungen auf die Vitalität der Samenfäden zum Gegenstande haben.

Wir stießen nämlich, einige Zeit nachdem wir diese Arbeit aufgenommen hatten, auf die gänzlich unerwartete Tatsache,

[1]) l. c. S. 339.

daß einfache Verdünnung einer Samenemulsion mit physiologischer Kochsalzlösung nicht etwa einen harmlosen Eingriff darstellt, daß also die physiologische Kochsalzlösung für die Samenfäden nicht nur nicht „physiologisch", sondern in hohem Grade different ist, insofern starke Verdünnung die Lebensdauer der Spermatozoen erheblich herabsetzt.

Ein Beispiel mag dies illustrieren:

Versuch (l. Nr. 8): Der Samen aus den beiden Nebenhoden einer frisch getöteten Ratte wurde in 2 ccm 0,7 % NaCl-Lösung in der oben beschriebenen Art emulgiert. In 0,1 ccm dieser Emulsion wurde mit 0,1, 0,5, 1,5 und 10 ccm 0,7 % NaCl verdünnt. Von Zeit zu Zeit wurden Proben entnommen und im hängenden Tropfen untersucht:

	Verdünnung mit 0,7 % NaCl in ccm				
	0,1	0,5	1	5	10
Im Beginn	lebh. Beweg.	lebh. Beweg.	lebh. Bew.	lebh. Bew.	lebh. Bew.
Nach 20 Min.	„	„	„	„	unbewegl.
„ 30 „	zieml. lebhaft	zieml. lebhaft	zieml. lebh.	unbewegl.	
„ 2 Std.	vereinz. langs. Bew.	vereinz. langs. Bew.	vereinz. langs. Bew.		
„ 3 „	„	„	unbewegl.		
„ 4 „	unbeweglich	unbeweglich			

Es betrug sonach die Lebensdauer bei der

	1	5	10	50	100fachen Verdünnung
etwa	4 Std.	4 Std.	3 Std.	30 Min.	20 Min.

Unter Einhaltung gleichmäßiger Versuchsbedingungen ist die Lebensdauer der Rattensamenfäden eine sehr konstante; sie beträgt in dicker Emulsion (1 Nebenhodenschwanz: 1 ccm 0,7 % NaCl) meist 3 bis 4 Stunden:

l. Nr. des Vers.	1	2	3	4	5	6
Lebensdauer	3	4	3	4	4	3 Std.

Daß die Samenfäden jeder Schwankung des osmotischen Druckes gegenüber recht empfindlich reagieren würden, war von vornherein zu erwarten:

Versuch (l. Nr. 6): Jeder Nebenhodenschwanz einer frisch getöteten Ratte wurde in zwei Hälften geteilt: der Samen jeder Hälfte in je 1 ccm 0,7 bzw. 1, 1,5 und 2 % NaCl emulgiert. Von Zeit zu Zeit wurden Proben im hängenden Tropfen beobachtet.

	NaCl			
	0,7 %	1 %	1,5 %	2 %
Im Beginn	lebhaft	lebhaft	langsam	unbewegl.
Nach 1/2 Std.	langs. Bew.	langs. Bew.	unbewegl.	
„ 2 1/2 „	Bew. langs. schlängelnd und fortschreitend	Bew. nicht mehr fortschreitend, nur langsam schlängelnd		
„ 3 „	vereinzelte zuckende Bew.	unbeweglich		

Versuch (1. Nr. 7): Lebensdauer in 0,7 % NaCl 2 1/2 Stunden. In 3 % NaCl wurden die Bewegungen sofort sistiert.

In zwei weiteren Versuchen wurden die Chloride der Alkalimetalle und alkalischen Erden in äquimolekularer Lösung miteinander verglichen.

Samen aus den beiden Nebenhoden einer Ratte wurde in 2 ccm 0,7 % NaCl verteilt. Je 0,1 ccm der Emulsion wurde mit 0,1 ccm der m/8 Lösung gemischt. Die Lebensdauer betrug in Stunden:

Nr. des Versuches	m/8 NaCl	m/8 KCl	m/8 NH_4Cl	m/8 LiCl	m/8 $MgCl_2$	m/8 $BaCl_2$	m/8 $CaCl_2$
27	2 1/2	2 1/2	1/2	wenige Min.	1	1 1/2	1 1/2
28	3 1/2	4	1 1/2	wenige Min.	1 1/2	1	1 1/2

Bei Betrachtung dieser Versuchsresultate fällt der Gegensatz derselben zu allen Erfahrungen über physiologische Ionenwirkung auf, wie sie namentlich von J. Loeb[1]) bei seinen Studien an rhythmisch zuckenden Muskeln gesammelt worden sind.

Während ein Muskel in einer KCl-Lösung sehr schnell unerregbar wird, in einer Lösung von LiCl ebenso wie in einer solchen von NaCl aber 1 bis 2 Tage lang zucken kann, sehen wir hier gerade umgekehrt, daß das KCl ebensogut befähigt ist wie das NaCl, die Bewegungen der Samenfäden zu unterhalten; das LiCl dagegen erscheint auch in einer der physiologischen Kochsalzlösung adäquaten

[1]) J. Loeb, Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen 1906, S. 122. — Über physiologische Ionenwirkungen. Handb. d. Bioch. 2, 125ff., 1908.

Konzentration exzessiv giftig, und zwar weit giftiger als das für die muskulären Organe so differente $BaCl_2$.

Ebensowenig war etwas von jenen antagonistischen Salzwirkungen zu merken, wie sie in Loebs Versuchen mit „physiologisch-äquilibrierten" Salzlösungen muskulären Gebilden gegenüber in so charakteristischer Weise zur Beobachtung gelangt sind.

Versuch (l. Nr. 29): Anordnung wie oben.

Es gelangten zum Vergleiche α) NaCl m/8; β) ein Gemenge: NaCl m/8 100 ccm + KCl m/8 2 ccm + $BaCl_2$ m/8 2 ccm; γ) ein Gemenge: NaCl m/8 100 ccm + KCl m/8 2 ccm + $CaCl_2$ m/8 2 ccm; δ) ein Gemenge: NaCl 100 ccm + KCl m/8 2 ccm + $MgCl_2$ m/8 2 ccm.

Die Lebensdauer der Rattenspermatozoen betrug in α) 3 Std., β) 3 Std., γ) 3 Std., δ) 2 Std.

Versuch (l. Nr. 30). Vergleich von

a) m/8 NaCl; b) Ringerscher Flüssigkeit (H_2O 1000 + NaCl 6 + KCl 0,075 + $CaCl_2$ 0,1 + $NaHCO_3$ 0,1); c) Lockescher Lösung (H_2O 1000 + $NaCl_9$ + KCl 0,2 + $CaCl_2$ 0,2 + $NaHCO_3$ 0,1); d) Künstliches Seewasser (m/8 NaCl 100 + m/8 KCl 2,2 + m/8 $MgCl_2$ 1,8 + m/8 $MgSO_4$ 3,8).

Die Lebensdauer der Samenfäden betrug in a), b), c) 3 Stunden, in d) etwa 2 Stunden.

Versuche die Lebensdauer der Spermatozoen durch reichliche Sauerstoffzufuhr, durch Substanzen, welche die Blut- bzw. Muskelgerinnung hemmen oder fördern (Hirudin, Natriumoxalat, Natriumcitrat, Natriumfluorid, Natriumjodid, Natriumrhodanid) oder durch Zusatz von Nährstoffen (Dextrose, Rohrzucker, Pepton) zu verlängern, führten nicht zum Ziele.

Versuch (l. Nr. 26): Samenemulsion aus den beiden Nebenhoden einer Ratte in 3 Portionen geteilt; durch eine Portion wurde Wasserstoff, durch die andere Sauerstoff in langsamem Strome geleitet.

	Keine Gasdurchleitung	Wasserstoff	Sauerstoff
Vers. Nr. 25 Lebensdauer	$4^1/_2$ Std.	20 Min.	20 Min.
„ „ 26 „	4 Std.	$1^1/_2$ Std.	1 Std.

Versuch (l. Nr. 24):

NaCl m/8	NaCl m/8 + Hirudin 0,5 %	NaCl m/8 + Hirudin 1 %
Lebensdauer $3^1/_2$ Std.	1 Std.	1 Std.

Versuch (l. Nr. 31). Samen von 2 Nebenhoden in 2 ccm NaCl m/8 emulgiert. Jede Probe enthält 0,1 ccm Samenemulsion und 0,1 ccm der zu prüfenden Lösung.

m/8 NaCl		Lebensdauer:	2 Std.
m/8 NaCl 100 +	m/8 Na-Oxalat 10%	„	1½ Std.
„	m/8 Na-Rhodanid 10%	„	½ „
„	m/8 Na-Citrat 10%	„	1 „
„	m/8 Na-Jodid 10%	„	1½ „
„	m/8 Na-Fluorid 10%	„	1 „

Versuch (l. Nr. 32). Anordnung wie oben.

m/8 NaCl				Lebensdauer:	3 Std.
m/8 NaCl	2 +	m/8 Rohrzucker	98	„	1 „
„	4	„	96	„	1 „
„	10	„	90	„	1 „
„	10	„	50	„	1 „
m/8 $MgCl_2$	10	„	50	„	½ „
m/8 $CaCl_2$	10	„	50	„	1 „
m/8 $BaCl_2$	10	„	50	„	1 „

Vers. (l. Nr. 33). Anordnung wie oben.

m/8 NaCl			Lebensdauer:	3 Std.
Ringersche Flüssigkeit	100 + Traubenzucker	1 g	„	3½ Std.
„ „	100 + Harnstoff	1 g	„	3 „
„ „	100 + Wittepepton	1 g	„	2 „

Dagegen gelang es leicht, in Übereinstimmung mit den Angaben Köllickers und anderer Autoren, die günstige Wirkung kleiner Alkalimengen auf die Vitalität von Spermatozoen zu demonstrieren, und zwar erwies sich eine Alkalescenz entsprechend 0,002 bis 0,004% NaOH als optimal; bei einer Alkalescenz von 0,008% NaOH war das Optimum bereits überschritten, und bei einer solchen von 0,040% wurden die Lebensäußerungen der Spermatozoen augenblicklich sistiert.

Versuch (l. Nr. 34). Anordnung wie oben.

				Lebensdauer:
m/8 NaCl				3½ Std.
m/8 NaCl 99,5 ccm +	n/20 NaOH	0,5 ccm	(= 0,001% NaOH)	5 Std.
„ 99,0 „	„	1,0 „	(= 0,002% „)	5 „
„ 98,0 „	„	2,0 „	(= 0,004% „)	5 „

Versuch (l. Nr. 35). Samen von 2 Nebenhoden in 2 ccm m/8 NaCl emulgiert. Je 0,1 ccm der Emulsion mit je 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit verdünnt (also Verdünnung 1:100).

			Lebensdauer:
m/8 NaCl			15 Min.
„	100 ccm + Dextrose 1 g		10 „
„	„ + „	n/20 NaOH 1 ccm	30 „
„	„ + n/20 NaOH 1 ccm		90 „

Versuch (l. Nr. 36). Anordnung wie oben (Verdünnung 1:100.)

n/8 NaCl		Lebensdauer:	10 Min.
n/8 NaCl 99 ccm + n/20 NaOH 1 ccm	(= 0,002%)	„	1 Std.
„ 98 „ 2 „	(= 0,004%)	„	1 „
„ 96 „ 4 „	(= 0,008%)	„	20 Min.
„ 90 „ 10 „	(= 0,020%)	„	10 „
„ 80 „ 20 „	(= 0,040%)	„	—

Versuch (l. Nr. 37). Anordnung wie oben.

n/8 NaCl		Lebensdauer:	15 Min.
„ 99 + n/20 NaOH 1 ccm	(0,002%)	„	2½ Std.
„ 98 „ 2 „	(0,004%)	„	2½ „
„ 96 „ 4 „	(0,008%)	„	1¼ „
„ 94 „ 6 „	(0,012%)	„	1 „
„ 92 „ 8 „	(0,016%)	„	1 „
„ 90 „ 10 „	(0,020%)	„	½ „
„ 80 „ 20 „	(0,040%)	„	— „

Es ergibt sich also die interessante Tatsache, daß **man den deletären Einfluß der Verdünnung des Spermas mit physiologischer Kochsalzlösung vollständig aufzuheben vermag, wenn man dieser letzteren eine Spur Alkali hinzufügt.**

III. Versuche betreffend die Wirkung des Prostatasekretes.

Wir gingen nunmehr daran, zunächst von dem günstigen Einflusse des Prostatasekretes auf die Vitalität der Spermatozoen selbst eine Anschauung zu gewinnen, und zwar bezogen sich unsere Versuche einerseits auf das Prostatasekret von Ratten, andererseits aber auch auf solches von Menschen, welches ich nach Fürbringers Verfahren durch vom Rectum aus bewirkte Kompression der Drüse gewann.

Versuch (l. Nr. 9). Samen aus einem Rattennebenhoden wurde in dem (mit 1 ccm 0,7% NaCl verdünnten) Safte einer Rattenprostata emulgiert. Als Kontrolle diente der in 1 ccm 0,7% NaCl emulgierte Samen des anderen Nebenhodens desselben Tieres.

	NaCl 0,7%	NaCl 0,7% + Prostatasekret
	Bewegungen der Samenfäden	
Im Beginn	lebhaft	sehr lebhaft
Nach 1 Stunde	langsam	lebhaft
„ 2 Stunden	vereinzelte Samenfäden zeigen langsame Bewegungen	die Mehrzahl der Samenfäden noch in lebhafter Bewegung
„ 3 „	alle Samenfäden unbeweglich	„
„ 8 „		Ein Teil der Samenfäden noch in fortschreitender und schlängelnder Bewegung
„ 10 „		Nur mehr einzelne Samenfäden beweglich

Versuch (1. Nr. 10). Anordnung wie oben.

	NaCl 0,7 %	NaCl 0,7 % + Prostatasekret
	Bewegungen der Samenfäden	
Im Beginn	lebhaft	sehr lebhaft
Nach 1 Stunde	ziemlich lebhaft	lebhaft
„ 2 Stunden	langsam	lebhaft
„ 3 „	Nur mehr vereinzelte Samenfäden in träger, schlängelnder Bewegung	Noch allenthalben lebhafte Bewegung
„ 4 „	Alle Samenfäden unbeweglich	„
„ 8 „		Ein Teil der Samenfäden noch in langsamer Bewegung
„ 11 „		Alle Samenfäden unbeweglich

Versuch (1. Nr. 11). Es wurde verglichen a) NaCl 0,7 %; b) der Saft einer Rattenprostata, mit 1 ccm 0,7 % NaCl verdünnt; c) menschliches Prostatasekret (nach Fürbringer gewonnen). Dasselbe reagierte alkalisch; 0,5 ccm desselben wurde mit 1 ccm NaCl 0,7 % verdünnt. In je 1 ccm dieser 3 Flüssigkeiten wurde der Samen aus einer Hälfte eines Rattennebenhodens emulgiert. Die Samenfäden in a) waren schon nach 3 Stunden sämtlich unbeweglich; dagegen fanden sich in b) und c) nach 3 Stunden die Mehrzahl der Spermatozoen in lebhafter Bewegung, und sogar noch nach 12 Stunden sah man zuckende Bewegungen einzelner Samenfäden.

Versuch (1. Nr. 12). Es wurde verglichen a) Saft einer Rattenprostata (wie oben); b) Saft einer katarrhalisch erkrankten menschlichen Prostata; stark alkalisch reagierend; 0,5 ccm davon mit 1,5 ccm 0,7 % NaCl verdünnt. In a) war noch nach 5 Stunden allenthalben lebhafte Bewegung, und selbst nach 14 Stunden sah man vereinzelte Samenfäden schlängelnd fortschreiten. In b) waren bereits nach 3½ Stunden fast alle Spermatozoen unbeweglich.

Versuch (1. Nr. 13). Ein Tropfen des unverdünnten Prostatasekretes einer Ratte wurde mit Hilfe einer Platinöse auf dem Deckglase direkt mit Samenflüssigkeit gemischt und beobachtet. Die Bewegungen der Samenfäden waren darin von Anfang an langsam und bereits nach 1 Stunde vollkommen sistiert, während sie in einer Kontrollprobe mit physiologischer Kochsalzlösung 2½ Stunden andauerten.

Versuch (1. Nr. 14). Samenfäden der Ratte im unverdünnten Prostatasekrete eines normalen Menschen beobachtet. Noch nach 6 Stunden waren viele Samenfäden in lebhafter, noch nach 10 Stunden vereinzelte derselben in langsamer Bewegung.

Unsere Versuche bestätigen also durchaus die Beobachtungen Steinachs und ist ein günstiger Einfluß

des (event. entsprechend verdünnten) Prostatasaftes auf die Vitalität der Samenfäden unverkennbar.

Aus unseren Beobachtungen geht weiterhin hervor, daß diese Wirkung keineswegs artspezifisch ist, insofern menschliches Prostatasekret seinen fördernden Effekt auch den Samenfäden der Ratte gegenüber geltend macht.

Durch weitere Versuche sollte nunmehr festgestellt werden, ob das im Prostatasafte enthaltene wirksame Agens ein solches von thermostabiler oder thermolabiler Natur sei:

Versuch (l. Nr. 15). Das Prostatasekret von 2 Ratten wurde mit 2 ccm 0,7% NaCl verdünnt und 10 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt. Der Samen des einen Nebenhodens einer Ratte wurde a) in 1 ccm dieser Flüssigkeit, der Samen des anderen Nebenhodens b) in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert. In b) sistierten die Bewegungen nach 2 Stunden, in a) dagegen waren noch nach 9 Stunden stellenweise zuckende Bewegungen sichtbar.

Versuch (l. Nr. 16). 0,5 ccm menschlichen Prostatasekretes wurde mit 1,5 ccm 0,7% NaCl verdünnt — die eine Hälfte der Flüssigkeit wurde 30 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt. In beiden Hälften wurde sodann der Sameninhalt je eines Rattennebenhodens suspendiert. Ein Unterschied zwischen der erhitzten und der nicht erhitzten Portion war nicht bemerkbar. In beiden Portionen konnten noch nach 10 Stunden Bewegungen der Samenfäden konstatiert werden.

Der wirksame Bestandteil ist also zweifellos thermostabiler Natur.

Der Versuch, den wirksamen Bestandteil durch Extraktion von menschlichem Leichenmateriale entnommenen Prostatadrüsen zu gewinnen, fiel negativ aus, ein scheinbar paradoxes Resultat, das aber später in der postmortalen Reaktionsänderung eine einfache Erklärung gefunden hat:

10 menschlichen Leichen entnommene Prostatadrüsen wurden zerkleinert und der Reihe nach mit kaltem Alkohol, heißem Alkohol und Wasser extrahiert, die Rückstände der Extrakte in NaCl 0,7% aufgenommen und mit Rattensperma-Emulsion versetzt. Die Lebensdauer der Rattensamenfäden betrug:

Versuch l. Nr.	In physiol. NaCl-Lösung	Im kalt bereiteten Alkoholextrakt	Im heiß bereiteten Alkohol-extrakt	Im Wasser-extrakt
20	$1^1/_2$ Std.	$^1/_2$ Std.		
21	3 „	3 „		
22	3 „		1 Std.	3 Std.

IV. Versuche betreffend die Wirkung der Samenflüssigkeit.

Da die früheren Versuche ergeben hatten, daß die Wirkung des Prostatasekretes nicht artspezifisch sei, das letztere aber natürlicherweise auch in der ejaculierten Samenflüssigkeit enthalten ist, lag es nahe, die Wirkung menschlicher, in Kondomen gesammelter Samenflüssigkeit auf die Vitalität des Rattenspermas einem genaueren Studium zu unterziehen:

Die Versuchsanordnung war derart, daß der Sameninhalt von 2 Rattennebenhoden in 2 ccm 0,7% NaCl emulgiert wurde. 0,1 ccm der Samenemulsion wurden mit 0,5 bzw. 0,1 ccm der zu prüfenden unverdünnten oder entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Samenflüssigkeit oder der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung gemengt.

Die Lebensdauer der Rattenspermatozoen betrug:

Versuch Nr.	In NaCl 0,7%	In unverdünntem Sperma	In verdünntem Sperma
38	3 Std.	10 Std.	
39	4 „	23 „	24 Std. (Verdünnung 1:50)
40	$1^1/_2$ „	8 „	
41	$2^1/_2$ „	$^1/_2$ „	11 „ („ 1:5)
42	3 „	— „	5 „ („ 1:5)
44	3 „	$1^1/_2$ „	8 „ („ 1:10)

Wie aus den mitgeteilten Versuchsresultaten zu ersehen ist, verhalten sich die Samenflüssigkeiten verschiedener menschlicher Individuen gegenüber den Rattenspermatozoen sehr verschieden, insofern sie die Vitalität derselben teils in hohem Grade steigern, teils aber auch in hohem Grade schädigen. Diese Verschiedenheiten aber fallen weg, sobald man die Samenflüssigkeit entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt hat. Dann tritt in allen Fällen die Fähigkeit derselben, die Lebensdauer der Rattenspermatozoen sehr erheblich zu verlängern, in unverkennbarer Weise zutage.

In noch eklatanterer Weise tritt diese Eigenschaft der Samenflüssigkeit zutage, wenn man die Versuchsbedingungen derart variiert, daß man je 0,1 ccm der Rattensamen-Emulsion mit je 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit (bzw. der physiologischen Kochsalzlösung) verdünnt und so die absolute Lebens-

dauer der Samenfäden durch die stärkere Verdünnung an sich verkürzt (s. o.).

Nr. Versuch	Lebensdauer der Rattenspermatozoen in					
	NaCl 0,7%	mit NaCl 0,7% verdünnt. menschl. Samenflüssigkeit Verdünnung:				
		1:5	1:10	1:30	1:50	1:100
45	20 Min.	2 Std.	2 Std.	2 Std.		
46	10 „			$^3/_4$ „	1 Std.	$1^1/_4$ Std.
49	10 „				2 „	

Auch hier wiederum ergab sich, ebenso wie bei Untersuchung des Prostatasekretes, die Tatsache der Thermostabilität des wirksamen Bestandteiles:

Versuch (l. Nr. 44). 0,1 ccm Rattensamen-Emulsion wurden mit je 0,5 ccm a) physiologischer Kochsalzlösung; b) nativen unverdünnten Menschensperma, c) nativen 10fach verdünnten Menschensperma; d) gekochten unverdünnten Menschensperma; e) gekochten 10fach verdünnten Menschensperma gemengt. Die Lebensdauer der Samenfäden betrug in

a) 3 Stunden; b) $1^1/_2$ Stunden; c) 8 Stunden; d) $1^1/_2$ Stunden; e) 8 Stunden.

Da die Samenflüssigkeit bekanntlich eine basische Substanz, das Spermin, als charakteristischen Bestandteil enthält, lag es nahe, die Wirkung derselben in bezug auf die Vitalität der Samenfäden etwa mit dieser Base in Zusammenhang zu bringen. Der direkte Versuch mit einem Sperminpräparate ergab jedoch alsbald die Haltlosigkeit dieser Vermutung:

Der Sameninhalt eines ganzen oder halben Rattennebenhodens wurde in $^1/_2$ bzw. 1 ccm einer mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Lösung eines Sperminpräparates („Sperminum Pöhl ad 2% in solutione physiologica sterilisata") emulgiert. Die Lebensdauer der Rattenspermatozoen betrug in

Versuch Nr.	NaCl 0,7%	Spermin		
		0,5%	1%	2%
17	$2^1/_2$ Stunden			1 Stunde
18	4 „		2 Stunden	
19	3 „	3 Stunden	2 „	1 „

Ich versuchte nunmehr weiterhin, den wirksamen Bestandteil der Samenflüssigkeit mit Hilfe der Alkoholfällung zu fraktionieren:

Einige Kubikzentimeter menschlicher Samenflüssigkeit wurden mit der 20fachen Menge von Alkohol versetzt, aufgekocht, der Niederschlag abfiltriert, Filtrat und Niederschlag von Alkohol befreit, der Rückstand in der dem ursprünglichen Samenquantum entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die beiden Lösungen wurden nach 10facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung in bezug auf ihr Verhalten gegenüber Rattensperma-Emulsion miteinander verglichen.

Nummer des Versuches	Lebensdauer der Rattenspermatozoen in		
	NaCl 0,7%	der Fraktion des Alkoholniederschlages	der Fraktion des Alkoholfiltrates
44	$1^1/_2$ Stunde	$6^1/_2$ Stunden	$1^1/_2$ Stunde

Der wirksame Bestandteil war also offenbar in der durch Alkohol fällbaren Fraktion enthalten.

Dieselbe erwies sich deutlich akalisch (und zwar wie die Titration gegen Lackmus ergab, einer Alkalescenz von 0,2% NaOH entsprechend); die in Alkohol lösliche Fraktion dagegen erschien nahezu neutral.

Dieser Umstand, zusammengehalten mit den oben erörterten Erfahrungen über den hochgradigen Einfluß kleiner Alkalimengen auf die Vitalität der Spermatozoen legte den Gedanken nahe, daß vielleicht einfach das Alkali des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit der gesuchte „wirksame Bestandteil" sei.

Falls diese Vermutung richtig war, mußte es ohne weiteres gelingen, die Wirksamkeit der alkalischen Samenflüssigkeit durch einfache Neutralisation zu beseitigen.

Es wurde daher die Alkalescenz mehrerer Spermaportionen auf titrimetrischem Wege mit Hilfe von Lackmustinktur ermittelt, sodann durch entsprechenden Säurezusatz ganz oder teilweise beseitigt und nunmehr die Wirksamkeit der nativen und der neutralisierten Spermaportionen miteinander verglichen (S. 305).

Die Versuche entsprachen durchaus der gestellten Annahme. In den beiden Versuchen 40 und 41 bewirkte Abschwächung der Alkalescenz des Spermas direkt eine Abnahme der Wirksamkeit. Bei einem dritten Versuche (Nr. 42), wo ein Sperma von besonders hoher Alkalescenz zur Anwendung gelangt und das Optimum dieser letzteren offenbar selbst durch 5fache Verdünnung noch nicht erzielt worden war, bewirkte geringer

Säurezusatz zunächst eine Verbesserung der Wirkung. Die Neutralisation hob jedoch auch hier die Wirkung auf.

Nummer des Versuches	Alkalesc. d. Spermas: entsprechend Prozent NaOH	Alkalesc. d. Spermas: 1 ccm Sperma erfordert zur Neutralis. (Kubikzentimeter n/10-Säure)	Zu 1 ccm Sperma wurden hinzugesetzt (Kubikzentimeter n/10-Säure)	Lebensdauer der Rattenspermatozoen in NaCl 0,7 %	nativ. Sperma: unverdünnt	nativ. Sperma: 5fach verdünnt	neutralis. Sperma: unverdünnt	neutralis. Sperma: 5fach verdünnt
40	0,20	0,5	0,5	$1^1/_2$ Std.	8 Std.		$1^1/_2$ Std.	
41	0,28	0,7	0,35	$2^1/_2$ „	$^1/_2$ „	11 Std.		$2^1/_2$ Std.
			0,50					1 „
			0,70					0 „
42	0,40	1,0	0,20	3 „	0 „	5 „		10 „
			0,35					9 „
			1,0					0 „

Es ergab sich aber nunmehr die weitere Frage, ob es die durch eine organische Base bedingte Alkalescenz sei, welche die Wirkung auslöst, oder ob das anorganische Alkali, welches in Form von Aschenbestandteilen im Sekrete enthalten ist, zur Erklärung der Wirkung ausreicht. Ist letzteres der Fall, so darf selbst die vollständige Zerstörung aller organischen Bestandteile des Sekretes durch die Gluthitze der in Rede stehenden Wirkung keinen Eintrag tun. Der Versuch hat auch tatsächlich ergeben, daß dies nicht der Fall ist und daß die Wirkung auch der Asche anhaftet:

Menschliche Samenflüssigkeit wurde in einer Platinschale verascht, die Asche mit physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt, auf das ursprüngliche Volumen der Flüssigkeit gebracht, titriert, eventuell mehrfach verdünnt und mit Rattensamenemulsion auf ihren Wirkungswert geprüft.

Nummer des Versuches	Alkalescenz der Aschenlösung, % NaOH entspr.	Rattensamenemulsion mit der zu prüfenden Lösung verdünnt	Lebensdauer der Rattenspermatozoen in NaCl 0,7 %	unverdünnter Aschenlösung	mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnter Aschenlösung: 10fach	20fach	50fach	100fach
43	0,09	1:5	4 Std.	1 Std.				
44	0,12	1:5	3 „		$5^1/_2$ Std.			
46	0,12	1:100	10 Min.			30 Min.	70 Min.	40 Min.
49	0,14	1:100	10 „				120 „	

Eine gegen Lackmus neutralisierte Spermaaschenlösung erwies sich unwirksam.

Wir mußten uns nunmehr die Frage vorlegen, ob denn das Prostatasekret, bzw. die Samenflüssigkeit anderen tierischen Flüssigkeiten gegenüber durch eine auffallend hohe Alkalescenz ausgezeichnet sei.

Nach Slowtzoff[1]) reagiert die menschliche Samenflüssigkeit deutlich alkalisch und entspricht die Alkalescenz 0,147 bis 0,148% NaOH.

Pezzoli[2]) fand die Alkalescenz pathologischer Prostatasekrete innerhalb weiter Grenzen schwankend. Als Mittelwert aus seinen Angaben läßt sich eine Alkalescenz entsprechend 0,26% NaOH berechnen.

Ich selbst habe die Alkalescenz einer größeren Zahl von menschlichen Samenflüssigkeiten auf titrimetrischem Wege ermittelt, (Lackmustinktur als Indicator):

Nummer des Versuches	Zahl der gemischten Spermaflüssigkeiten	Volumen des Spermas ccm	Verbrauchte ccm n/20-Säure	Alkalescenz entsprechend % NaOH
38	1	1	1,15	0,23
38	1	1	1,35	0,27
39	1	1	2,25	0,45
39	1	1	2,00	0,40
40	1	1/2	0,50	0,20
41	1	1	1,40	0,28
44	4	3	6,20	0,41
45	5	1	2,00	0,40
46	4	1	2,10	0,42
49	3	1	2,00	0,40

Die Alkalescenz der auf das ursprüngliche Volumen bezogenen Spermaasche wurde ganz erheblich geringer gefunden (s. o. 0,09 bis 0,14% NaOH), und muß hervorgehoben werden, daß die Ergebnisse der Titration in einer so eiweißreichen Flüssigkeit, wie es das Sperma ist, höchst unsicher und wenig verläßlich sind. Die Titration nach Enteiweißung mit kochendem Alkohol ergab in einem Falle eine Alkalescenz von 0,2% NaOH.

Ich habe wiederholt bei Ratten und bei Menschen die Reaktion der Sekrete des Hodens, der Prostata sowie der Samenblasen geprüft; stets fand ich das Hoden- und Samenblasensekret neutral, dasjenige der Prostata deutlich alkalisch, was mit den Angaben Caspers[3]) übereinstimmt.

---

[1]) Slowtzoff, Zur Chemie des menschlichen Sperma. Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 359.

[2]) l. c., S. 698.

[3]) l. c., S. 439.

Vergleicht man diese Werte mit den Angaben über Blutalkalescenz, so kann man so viel sagen, daß beide hinsichtlich ihrer Größenordnung nicht in auffallender Weise differieren.

Um nur einige Angaben als Beispiele herauszugreifen, sei beiläufig angeführt, daß der titrierbare Alkaligehalt des normalen Menschenblutes von Jaksch mit 0,26 bis 0,30 $^0/_0$ NaOH, von Strauß mit 0,30 bis 0,35 $^0/_0$ NaOH, von Rzentkowski mit 0,37 $^0/_0$ NaOH, derjenige des Kaninchenblutes von Landau mit 0,37 $^0/_0$ NaOH angegeben wird.

Wenn nun die Alkalescenz der Samenflüssigkeit allem Anscheine nach nicht um vieles größer ist als diejenige des Blutes, die günstige Wirkung der ersteren in bezug auf die Vitalität der Samenfäden aber im wesentlichen auf der Alkalescenz beruht, muß auch das Blut bzw. das Blutserum wenn nicht direkt, so nach entsprechender Verdünnung imstande sein, den gleichen Effekt in bezug auf die Spermatozoen zu entfalten.

Es ist dies auch in der Tat der Fall.

0,1 ccm einer Rattensamenemulsion wurden mit der 100fachen Menge der zu prüfenden Flüssigkeit gemischt. Die Lebensdauer der Samenfäden betrug in

Vers. Nr.	NaCl 0,7 $^0/_0$	Mit NaCl 0,7 $^0/_0$ verdünntem Blute bei						Art des Blutes
		2	3	4	5	10	20	
		facher Verdünnung						
48	10 Min.				$2^1/_2$ Std.	$2^1/_2$ Std.	$2^1/_2$ Std.	Menschenblut
48	10 „	10 Min.	10 Min.	10 Min.	30 Min.	2 „	2 „	Hundeblutserum
49	10 „					2 „		Menschenblut

Es liegt also gar kein Grund vor, in dem beobachteten Effekte des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit etwas Spezifisches zu sehen und nach einem besonderen wirksamen Bestandteile zu suchen, welcher befähigt ist, „das in den Spermatozoen schlummernde Leben vermöge spezifischer vitaler Eigenschaften auszulösen". Bietet doch die Alkalescenz, welche diesen (ebensogut wie anderen) tierischen Flüssigkeiten eigentümlich ist, und die Fähigkeit minimaler Alkalimengen, die Vitalität der Samenfäden erheblich zu steigern, eine ausreichende Erklärung für die beobachteten Erscheinungen.

Da die titrierbare Alkalescenz des Prostatasekretes anscheinend größer ist als diejenige des Hoden- und Samenblasensekretes, läßt sich die Möglichkeit sicherlich nicht leugnen, daß die durch die Vermengung dieser Sekrete hervorgerufene Alkalescenzänderung die Lebensäußerungen der Samenfäden beeinflussen und daher von physiologischer Wichtigkeit sein könnte. Ob sich dies aber tatsächlich so verhält, ist eine andere Frage, die keineswegs ohne weiteres bejaht werden darf, und deren Beantwortung nur auf Grund sorgfältiger Untersuchungen möglich wäre. Die Schwierigkeiten, welche sich jedoch solchen entgegenstellen, sind doppelter Art und beziehen sich einerseits auf die richtige Ermittelung der Alkalescenz der eiweißreichen Sekrete und andererseits auf die Erlangung eines geeigneten Versuchsmaterials in ausreichenden Quantitäten. Menschliches Leichenmaterial, insoweit es nicht ganz frisch ist, erscheint dazu ungeeignet, da dabei natürlich die Gefahr einer postmortalen Säurebildung und einer totalen Verschiebung der physiologischen Verhältnisse besteht.

Jedenfalls ist das spärliche, bisher in dieser Richtung vorliegende Beobachtungsmaterial völlig unzureichend, um eine Erledigung dieser schwierigen und subtilen Frage zu gestatten.

Zusammenfassung.

1. Starke Verdünnung einer Emulsion von Rattenspermatozoen mit physiologischer Kochsalzlösung übt auf die Vitalität derselben eine deletäre Wirkung aus, welche durch Zusatz einer minimalen Alkalimenge aufgehoben werden kann.

2. Die von Loeb beim Studium der Rhythmik muskulärer Organe beobachteten Ionenwirkungen haben in bezug auf die Spermatozoenbewegungen keine Gültigkeit. Gerade umgekehrt wie bei den Muskeln ist eine reine Kaliumchloridlösung ebensogut befähigt, die Bewegungen der Samenfäden zu unterhalten, wie eine Natriumchloridlösung. Dagegen erscheint das (für Muskeln ganz indifferente) Lithiumchlorid excessiv giftig, und zwar weit giftiger als das Bariumchlorid. Von antagonistischen Salzwirkungen im Sinne Loebs war hier nichts zu bemerken.

3. Die Beobachtungen von Steinach und Walcker betreffend den günstigen Einfluß des Prostatasekretes auf die Vitalität der Spermatozoen wurden bestätigt.

4. Einen gleich günstigen Einfluß auf die Lebensfähigkeit der Rattenspermatozoen ergab menschliche Samenflüssigkeit, wenn nicht direkt, so nach entsprechender Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Lebensdauer der Samenfäden konnte durch Zusatz derselben auf mehr als das 10fache verlängert werden.

5. Diese Wirkung der Sekrete akzessorischer Geschlechtsdrüsen findet in der Alkalescenz derselben eine ausreichende Erklärung, und es liegt vorläufig kein Grund vor, der zur Annahme der spezifischen Wirksamkeit eines organischen, vitale Eigenschaften der Samenfäden auslösenden Sekretbestandteiles zwingen würde. Blut und Blutserum zeigen nach entsprechender Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung die gleiche Wirkung, welche also keineswegs eine besondere Eigentümlichkeit sexualer Sekrete bildet.

Über Assamin, das neutrale Saponin der Assamteesamen.

Von

Josef Halberkann.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie der Universität Rostock.)

(Eingegangen am 4. Mai 1909.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die zu meiner Arbeit nötigen Assamteesamen hat Professor Kobert durch gütige Vermittlung des holländischen Kolonialinstitutes in Haarlem frisch aus Niederländisch-Indien bezogen, wofür hierdurch bestens gedankt sein möge. Einen Teil derselben hatte die Firma Merck die Liebenswürdigkeit, für uns auf Saponin zu verarbeiten. Auch ihr sei hier dafür bestens gedankt. (Die recht verbreitete Ansicht, daß Saponine gegen Insektenfraß schützen, erwies sich an diesen Samen übrigens als unrichtig; denn eine sehr beträchtliche Zahl der Samen war schon bei der Ankunft von Insekten aufgefressen).

Chemischer Teil.

Assamin ist ein gelblichweißes, feines, amorphes, optisch inaktives Pulver. Aus der Luft zieht es begierig Wasser an, ohne seine Pulverform zu verlieren. In Wasser ist es in jedem Verhältnis löslich, in kaltem absolutem Alkohol unlöslich, in kochendem wenig löslich; in verdünntem Alkohol löst es sich entsprechend der Menge des Wassers. Leicht löslich ist es in Essigsäure und Phenol, unlöslich in Chloroform, Äther, Schwefelkohlenstoff und Ligroin.

Die Lösungen des Assamins in Wasser sind nicht lange haltbar. Eine 1%ige Lösung, in dunkler Flasche aufbewahrt,

trübte sich nach einigen Tagen; nach längerer Zeit bildete sich ein aus feinsten Flöckchen bestehender Bodensatz. Dabei tritt ein Geruch auf, der dem des Altheesaftes vollkommen gleicht. Beim Stehenlassen in offenen Gefäßen treten diese Zersetzungen, die wohl auf bakterieller Tätigkeit beruhen, schneller ein.

Assamin ist aus seinen Lösungen weder durch Kochsalz noch durch Ammonchlorid fällbar; demzufolge löst es sich in konzentrierten Lösungen dieser Salze auf. Selbst eine 40%ige Ammonsulfatlösung fällt eine 25%ige Lösung des Saponins nicht.

Assamin wird in wässeriger Lösung durch Tierkohle stark absorbiert. 50 ccm einer ca. 1,2%igen Saponinlösung wurden mit 1 g Tierkohle kurze Zeit geschüttelt und filtriert. Je 30 ccm des Filtrates und der nicht mit Tierkohle behandelten Lösung wurden zur Trockne eingedampft und 2 Stunden lang im Trockenschrank erhitzt. Im ersten Falle blieb 0,1968 g, im zweiten 0,3576 g Rückstand. Die Tierkohle hatte also 45% des Assamins absorbiert. Nach Neuberg (63) verhalten sich Fermente, wie Ricin und Pankreaslipase ebenso; sie werden teilweise absorbiert.

0,001 g Assamin färbt konzentrierte Schwefelsäure erst gelblich, im Verlauf von 10 Minuten rot bis violettrot. Die Rotfärbung der Säure wird auf Zusatz einiger Tropfen Bromwasser bedeutend intensiver, wie solches auch Kiliani (64) für sein Digitonin angibt.

0,001 g Assamin färbt Meckes Reagens sofort kirschrot, welche Farbe schnell in violettrot übergeht und allmählich verblaßt.

Mit Millons bzw. Nasses Reagens, sowie mit Kilianis und mit Fröhdes Reagens tritt keine Reaktion ein.

In alkoholischer Schwefelsäure löst sich Assamin mit gelber Farbe, die beim Erwärmen über kirschrot und bordeauxrot nach längerem Stehen in tief violettrot umschlägt. Setzt man zu dieser Lösung sehr wenig Eisenchlorid, so tritt zwar keine Grünfärbung ein, wie solche bei anderen Saponinen beobachtet wurde (65), doch zeigt die Flüssigkeit eine schöne grüne Fluorescenz.

Wird Assamin mit konzentrierter Salzsäure einige Zeit erhitzt, dann färbt sich die Säure unter gleichzeitiger Abscheidung

von Sapogenin rot (64). Auf Zusatz von Bromwasser verschwindet die Farbe, ist jedoch beim Verdünnen mit Alkohol beständig. Diese klare Lösung wird durch Alkali entfärbt; beim Ansäuern wird die Farbe wieder hergestellt.

Ammoniakalische Silberlösung löst das Saponin ohne Färbung und ohne Reduktion. Kocht man, so färbt sich die Lösung gelbrot, dann rotbraun, und nach längerem Erhitzen tritt Reduktion des Silbersalzes ein.

Wird eine Quecksilberchlorid-Assaminlösung einige Zeit gekocht, so erfolgt erst beim Erkalten allmählich eine Trübung. Der Niederschlag wurde abfiltriert, sorgfältig ausgewaschen und mit Ammoniakflüssigkeit übergossen, wobei sich der Filterinhalt schwärzte. Es war also Reduktion zu Quecksilberchlorür eingetreten.

Kaliumpermanganat wird schon in der Kälte reduziert, in der Hitze in großer Menge. Ebenfalls wird Chromsäure reduziert.

Mit Neßlers Reagens (26) entsteht in der Kälte ein gelblich-grauer, bald grau werdender Niederschlag, in der Hitze sofort ein grauer Niederschlag. Dabei färbt sich die Flüssigkeit gelb, dann rotbraun bzw. sofort rotbraun. Das Spektrum derselben ist von grün bis violett ausgelöscht. Nach mehrtägigem Stehen gelatiniert die Flüssigkeit, so daß die Reagensgläser umgekehrt werden können. Alkohol zerstört die Gallerte.

Eine Assaminlösung färbte sich auf Zusatz von Eisenchlorid braunrot, welche Farbe durch Salzsäure zum Verschwinden gebracht wurde. Es wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Auszug mit Wasser gewaschen und dann mit eisenchloridhaltigem Wasser geschüttelt. Die wässerige Flüssigkeit färbte sich schwach, jedoch rein violett. Die Reaktion mit Eisenchlorid kommt also nicht dem Saponin zu, sondern einer phenolartigen Beimengung, wahrscheinlich Salicylsäure, die aus dem Teesamen stammt. Die Senegawurzel enthält ja auch Salicylsäure, und zwar zu 0,15 % in Form des Methylesters. P. Hoffmann (19) isolierte aus seiner Quillayasäure eine phenolartige Säure, die allerdings für Salicylsäure zu hoch schmolz und die Violettfärbung nicht gab. Der Gehalt der Verunreinigung im Assamin war gemäß qualitativer Prüfung so gering, daß eine Beseitigung zur Analyse des Saponins nicht angebracht war.

Eine Eisenchlorid-Ferricyankaliumlösung wird durch Assamin reduziert, kenntlich an der Abscheidung von Berliner Blau.

Eine feste Cholesteridverbindung, wie sie A. Windaus (66) beim Vermischen von alkoholischen Lösungen des Digitonins und des Cholesterins erhielt, liefert Assamin nicht; damit steht im Einklang die leichte Dissoziation der auf anderem Wege erhaltenen Verbindung durch Äther.

Bleiessig fällt das Assamin noch aus einer Lösung 1:1000. Bleiacetat ruft, auch in konzentrierten Lösungen, keinen Niederschlag hervor.

Assamin wird durch Gerbsäuren nicht gefällt. Geprüft wurde mit Gallus-, Catechu-, Dividivi-, Eichen-, Myrobalan-, Quebracho- und Sumachgerbsäure.

Beim Versetzen von Fehlingscher Lösung in der Kälte mit konzentrierter Assaminlösung oder mit verdünnter in der Wärme, schlägt die Farbe der Lösung von Blau in Grün um, ein Grün von der Färbung des Chlorophylls. Die Grenzen dieser Färbung liegen bei 1:10000 und ist bei den nächstliegenden Verdünnungen nur mittels Vergleichslösungen, doch deutlich zu sehen.

5 ccm	Assaminlös.	1:100 + 10	Tropf.	Fehlingsche	Lösung:	intensive	Grünf.
5 „	„	1:1000 + 10	„	„	„	„	„
5 „	„	1:2000 + 10	„	„	„	„	„
5 „	„	1:3000 + 10	„	„	„	deutliche	„
5 „	„	1:4000 + 10	„	„	„	„	„
5 „	„	1:5000 + 10	„	„	„	„	„
5 „	„	1:6000 + 10	„	„	„	„	„
5 „	„	1:7000 + 10	„	„	„	schwache	„
5 „	„	1:8000 + 10	„	„	„	sehr schw.	„
5 „	„	1:9000 + 10	„	„	„	„ „	„
5 „	„	1:10000 + 10	„	„	„	keine	„

Da sich Assamin in Laugen mit gelber Farbe löst, ist die Grünfärbung in konzentrierter Lösung zum Teil wohl eine Komplementärwirkung. Doch kann sie darauf allein nicht beruhen, da Saponaria-Sapotoxin, ebenfalls in Alkalien gelb löslich, unter gleichen Bedingungen überhaupt keine, Guajac-Saponin wenigstens bei 1:1000 keine Grünfärbung mehr zeigt.

In der Fehlingschen Lösung wurde das Kupfersulfat durch Nickelsulfat und Kobaltsulfat ersetzt. Erstere Lösung ist grün gefärbt, letztere violettrötlich; beide werden durch Assamin gelb gefärbt.

5 ccm Assaminlös.	1:100	+Ni-Fehlingsche Lösung:	intensive	Gelbfärbung
5 „ „	1:200	+Ni- „ „	„	„
5 „ „	1:1000	+Ni- „ „	schwache	„
5 „ „	1:2000	+Ni- „ „	sehr schwache	„

Quillayasäure gibt nur in konzentrierter Lösung Gelbfärbung, Guajac-Saponin bei 1:1000 keine mehr. Agrostemmasäure, Cereïnsäure und Smilacin rufen keinen Farbenwechsel hervor.

5 ccm Assaminlös.	1:100	+Co-Fehlingsche Lösung:	intensive	Gelbfärbung
5 „ „	1:200	+Co- „ „	„	„
5 „ „	1:1000	+Co- „ „	keine	„

In konzentrierten Assaminlösungen entsteht durch Fehlingsche Lösung ein weißer, beim Erwärmen löslicher Niederschlag. Nach kurzem Aufkochen bildet sich kein Kupferoxydul.

Emulsin und Pepsin vermögen Assamin nicht zu spalten, wenn sie bei 38° zwei Tage lang einwirken, und zwar letzteres in schwach salzsäurehaltiger Lösung.

Eine aufrahmende Wirkung, wie sie K. Tufanow (67) für sein Cyclamin beobachtete, zeigte Assamin gegen Kuhmilch nicht. Dieses Verhalten steht im Einklang mit den emulgierenden Eigenschaften der Saponine. Das Cyclamin veränderte wahrscheinlich die Eiweißhülle der Milchkügelchen, wobei das Fett mechanisch mit zur Oberfläche gerissen wurde.

Das zur Untersuchung gelangende Assamin war nicht frei von mineralischen Bestandteilen. Fünf Aschebestimmungen — die Substanz wurde an verschiedenen Stellen entnommen — ergaben im Mittel 6,324 % Asche.

0,5588	Assamin gaben	0,0354	Asche	= 6,335 %
0,2482	„ „	0,0154	„	= 6,205 %
0,3716	„ „	0,0234	„	= 6,297 %
0,5596	„ „	0,0360	„	= 6,433 %
0,4220	„ „	0,0268	„	= 6,351 %

Es wurde versucht, durch Auskochen mit absolutem Alkohol die anorganischen Stoffe zu beseitigen bzw. auf ein Minimum herabzudrücken. Da jedoch die Asche nach dreimaliger Behandlung immer noch 4,74 % betrug und nicht mehr abnahm, wurden die Analysen mit dem 6,324 % aschehaltigen Material ausgeführt.

Das Fehlschlagen der Versuche, das Assamin aschefrei herzustellen, ist leicht erklärlich durch die Löslichkeit vieler

anorganischer Salze in Alkohol, jedenfalls leichter als durch die Annahme von Ed. Stütz (10), daß, da sein am besten gereinigtes Quillayasaponin noch 2,4 % Asche enthielt, diese Asche ein Bestandteil des Saponinmoleküls sei.

Die Verbrennungen des Assamins lieferten folgende Zahlen:

0,1212	Substanz	(aschefrei gerechnet)	gaben	0,2486 CO_2	und	0,0784	H_2O
0,1190	"	"	"	0,2438 "	"	0,0762	"
0,2168	"	"	"	0,4424 "	"	0,1396	"

Gefunden:

55,94 % C	7,24 % H	im Mittel
55,87 % C	7,16 % H	55,82 % C
55,65 % C	7,20 % H	7,20 % H

Aus diesen Daten berechnet sich die empirische Formel $C_{4,65}H_{7,15}O_{2,31}$, bzw. $C_{20,13}H_{30,92}O_{10}$, die sich der Kobertschen Reihe $C_nH_{2n-8}O_{10}$ einpaßt in der Annahme, daß für Wasserstoff 32 einzusetzen ist. Für die Formel $C_{20}H_{32}O_{10}$ würde sich berechnen 55,52 % C und 7,46 % H. Boorsma (57) fand als Resultat seiner Analysen 53,15 % C und 7,24 % H entsprechend der Formel $C_{18}H_{28}O_{10}$. Für das aus dem Samen von Camellia theifera isolierte Teesamensaponin, welches mit dem Assamin identisch sein dürfte, fand Weil (25) 53,42 % C und 7,19 % H und die Formel $C_{18}H_{28}O_{10}$. Er bestimmte auch das Molekulargewicht durch Gefrierpunkt. Erniedrigung in Eisessig zu 366, während der Formel $C_{18}H_{28}O_{10}$ das Molekulargewicht 404 entspricht.

Meine Verbrennungen, die ca. 2,5 % C mehr lieferten als Boorsma und Weil fanden, wurden erst 3 Stunden nach Entzünden aller Flammen beendet, da nur dann in sich übereinstimmende Resultate zu erzielen waren. Mein erhöhter Kohlenstoffbefund könnte auf einen Gehalt des Assamins an Carbonaten zurückgeführt werden. Acetate kommen nicht in Frage, da diese den Kohlenstoffgehalt und Wasserstoffgehalt erhöht hätten, während letzterer mit den Resultaten obiger Analytiker übereinstimmt. Zur Bestimmung ev. vorhandener Carbonate wurden 3,2474 Assamin mit verdünnter Salzsäure erhitzt und die freigewordene Kohlensäure in Lauge aufgefangen. Es wurde gefunden 0,007 CO_2, was für 100 g Saponin + 6,751 g Asche ein zuviel von 0,063 % an Kohlenstoff ergibt. Diese Menge ist für die Richtigkeit der Analysen ohne Belang.

Acetylassamin.

5 g Assamin wurden mit 7,5 g entwässertem Natriumacetat sorgfältig gemischt, in 30 g Essigsäureanhydrid eingetragen, und diese Mischung 5 Stunden auf 120 bis 130° erhitzt, dann in Wasser eingegossen. Nach 24 Stunden wurden die braunroten Massen zerkleinert, mit Wasser gewaschen, in alkoholischer Lösung mit Tierkohle entfärbt und noch heiß in Wasser filtriert. Der Niederschlag wurde nach dem Trocknen in Chloroform gelöst, mit Ligroin ausgefällt und auf Tonplatten über Kalihydrat gebracht, um die letzten Spuren Essigsäure zu entfernen.

Acetylassamin ist ein gelblichweißes, geruchloses, aschefreies Pulver, sehr leicht löslich in Chloroform und Essigsäure, leicht in Benzol, Essigäther und Alkohol, etwas schwerer löslich in Äther, unlöslich in Ligroin und Wasser. Konzentrierte Schwefelsäure färbt sich durch die Acetylverbindung erst gelb, dann braun, schließlich violettrot. Meckes Reagens wird gelbrot, dann braunrot. Wird eine Chloroformlösung mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, so bildet sich ein gelbroter Ring.

Die Analysen lieferten folgende Werte:

0,1522 Substanz	gaben	0,3162 CO_2	und	0,0870 H_2O
0,2144 „	„	0,4444 „	„	0,1184 „
0,2226 „	„	0,4642 „	„	0,1250 „

Gefunden:

56,67 % C	6,41 % H	im Mittel
56,48 % C	6,19 % H	56,67 % C
56,87 % C	6,28 % H	6,29 % H

woraus sich die empirische Formel $C_{4,72}H_{6,22}O_{2,32}$ berechnet.

Die Molekulargewichtsbestimmungen des Acetylassamins wurden nach der Landsbergerschen Methode der Siedepunkterhöhung ausgeführt. Als Lösungsmittel wurde Chloroform angewandt, dessen Konstante 36,6 ist. Die Berechnung geschah nach der Formel

$$\frac{100 \cdot \text{Substanz} \cdot 36,6}{\text{Diff.}\,^{0} \cdot \text{Lösungsmittel}}$$

Substanz	Menge des Lösungsmittels	Siedepunkt-Erhöhung	Gef. Mol.-Gew.
0,6988	19,0608	0,125°	1073
0,7864	21,2100	0,13°	1048
1,0674	19,2250	0,215°	945

Ganz ähnliche Zahlen erhielt O. May (20) bei Acetyl-Sapindus-Saponin, nämlich 1028, 930 und 826, und auch L. Rosenthaler (68) bei Acetyl-Gypsophila-Saponin, nämlich 955, 878 und 1003, während letzterer (12) für Acetyl-Verbascum-Saponin 2406 fand. Diese Bestimmungen wurden in Benzollösung nach der Raoulschen Methode ausgeführt.

Zwecks Bestimmung der in das Assaminmolekül eingetretenen Acetylgruppen wurde die Substanz in 25 ccm absolutem Alkohol gelöst und in der Kälte 50 ccm $^n/_2$-alkoholische Alkalilösung zugesetzt. Nach anfänglicher Braunfärbung tritt bald Trübung ein infolge eines sich bildenden gelben Niederschlages. Zur Vervollständigung der Umsetzung wurde das Gemisch $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbade am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten wurde die am Boden des Gefäßes klebende braune Masse durch Zusatz ausgekochten Wassers gelöst, die Flüssigkeit immer auf das gleiche Volumen gebracht, und der Alkaliüberschuß mit Phenolphthalein als Indicator mittels $^n/_2$-Salzsäure zurücktitriert.

				Für 1 g Substanz berechnet als CH_2CO
0,8254	Substanz	verbrauchten	16,4 $^n/_2$-KOH	= 0,4157
0,9560	„	„	19,3 „	= 0,424
1,0052	„	„	19,45 „	= 0,4062
1,3032	„	„	26,05 „	= 0,4198
			im Mittel also	0,4164

Wird nun die gefundene empirische Formel des Assamins $C_{20,18}H_{30,92}O_{10}$ = Mol.-Gew. 433 zugrunde gelegt, dann berechnet sich das Gewicht der eingetretenen Acetylgruppen nach der Gleichung

$$x = \frac{0,4164 \cdot 433}{0,5836} = 309$$

und die Anzahl derselben nach der Gleichung

$$x = \frac{0,4164 \cdot 433}{0,5836 \cdot 42} = 7,356.$$

Das Molekulargewicht des Acetylassamins müßte also gemäß Berechnung $433 + 309 = 742$ sein. Da aber das gefundene Molekulargewicht im Mittel 1022 beträgt, so ist das berechnete Molekulargewicht 742 mit 1,5 zu multiplizieren, ebenso die berechnete Formel und das Molekulargewicht des Assamins.

Demnach wäre die Formel und Molekulargewicht für Assamin $C_{30,2}H_{46,38}O_{15} = 649$ und entsprechend für Acetylassamin $C_{52,2}H_{68,38}O_{26} = 1111$.

In das Assaminmolekül wären gemäß der Titration 11 Acetylgruppen eingetreten. Diese Zahl ist aber höchstwahrscheinlich nicht richtig und muß auf 10 reduziert werden. Die Beobachtungen, die dazu führen, sind folgende: Beim Kochen des Assamins mit alkoholischer Salzsäure tritt der charakteristische Geruch des Buttersäureäthylesters auf. Ebenfalls roch bei der Verseifung des Acetylassamins die Flüssigkeit nach Zusatz überschüssiger Säure intensiv nach Buttersäure. Diese Säure ist allem Anscheine nach ein Bestandteil des Assaminmoleküls und wird beim Kochen mit Alkalien abgespalten. Daß sich auch aus anderen Saponinen beim Behandeln mit Alkali Buttersäure bildet, ist eine bekannte Tatsache und wird u. a. von Mutschler (40), Rochleder (39), Weil (25) und May (20) hervorgehoben. Da dieselbe als Acetylgruppe bei der Bestimmung mittitriert wurde, ist also ein Acetyl in Abzug zu bringen, und es berechnet sich demnach, durch Eintritt von zehn Acetylresten in das Assamin, Formel und Molekulargewicht des Acetylassamins zu $C_{50,2}H_{66,38}O_{25} = 1069$.

Spaltung des Assamins.

Es wurden vorerst Versuche angestellt, in welcher Konzentration das Assamin durch Salzsäure und Schwefelsäure, soweit sich solches äußerlich beurteilen ließ, am zweckmäßigsten zu spalten sei. Salzsäure wurde später nicht mehr angewandt, da deren Entfernung aus dem zuckerhaltigen Filtrate zuviel Silberoxyd erforderte. Da bei Anwendung von 10⁰/₀iger und auch 5⁰/₀iger Schwefelsäure Filtrat und Niederschlag stark gebräunt wurden, wurde die Spaltung mit 3⁰/₀iger Schwefelsäure ausgeführt.

Eine 5⁰/₀ige Assaminlösung wurde nach Zusatz von so viel Schwefelsäure, daß ihre Menge 3⁰/₀ betrug, 3 Stunden lang auf lebhaft siedendem Wasserbade unter häufigem Umschütteln erhitzt. Nach ungefähr ¹/₂ Stunde trübte sich die braune Lösung plötzlich, und allmählich sammelte sich am Boden des Gefäßes ein weicher Sapogeninkuchen. Nach 3 Stunden hat sich die überstehende braune Flüssigkeit geklärt. Beim Erkalten er-

starrt der Kuchen, der den Eindruck krystallinischer Struktur macht; doch sind mikroskopisch Krystalle nicht wahrzunehmen. Das Sapogenin wurde nach dem Zerkleinern und Auskochen mit Wasser in absolutem Alkohol gelöst, und diese Lösung in Wasser filtriert. Das abgeschiedene Sapogenin wurde wiederum in Alkohol gelöst, $^1/_2$ Stunde mit Tierkohle gekocht und aus dem Filtrate mit Wasser gefällt. Nach dem Trocknen auf Ton und nach dem Zerreiben bildet das Sapogenin ein fast weißes, aschefreies, nicht krystallinisches Pulver, leicht löslich in Alkohol und Eisessig, schwerer in Äther und Chloroform, unlöslich in Ligroin und Wasser. Langsam erhitzt, sintert es bei 175° zusammen und zersetzt sich gegen 178° unter starkem Aufschäumen.

Die Ausbeute an Rohsapogenin betrug als Mittel aus drei Bestimmungen 49,05%.

Die Verbrennungen ergaben folgende Zahlen:

0,1550 Substanz gaben 0,3642 CO_2 und 0,1118 H_2O
0,1462 „ „ 0,3456 „ „ 0,1058 „
0,1650 „ „ 0,3896 „ „ 0,1128 „

Gefunden:

64,08% C	8,07% H	im Mittel
64,47% C	8,10% H	64,32% C
64,4 % C	7,65% H	7,88% H

woraus sich die empirische Formel $C_{18,5}H_{27,2}O_6$ berechnet, wenn Sauerstoff zu 6 angenommen wird.

Zu einer eventuellen Reinigung des Sapogenins wurde das Kaliumsalz bereitet. Sapogenin wurde in Alkohol gelöst, dann eine wässerige Kalihydratlösung zugefügt, und die Lösung so lange auf dem Wasserbade erhitzt, bis Trübung eintrat. Nach Zusatz von Alkohol bis zur klaren Lösung wurde auf dem Wasserbade erkalten lassen. Es schieden sich weiße, mikroskopisch kleine Nadeln ab, während die überstehende Flüssigkeit braun gefärbt war. Ein Auswaschen des erhaltenen Niederschlages oder Umkrystallisieren erwies sich als unmöglich, da sowohl durch Wasser als auch durch Alkohol wieder Spaltung eintrat. Da das Sapogeninkaliumsalz noch freies Alkali enthielt, erübrigten sich die Analysen.

Das Sapogeninkalium wurde auf der Nutsche durch scharfes Absaugen möglichst von der Mutterlauge getrennt, mit wenig alkalihaltigem Wasser gewaschen und in verdünntem Alkohol

gelöst. Nach Zusatz überschüssiger Salzsäure fiel beim Verdünnen mit Wasser das regenerierte Sapogenin aus.

0,1546	Substanz gaben	0,3784	CO_2	und	0,1154	H_2O
0,1204	„ „	0,2954	„	„	0,0912	„

Gefunden:

66,75 % C	8,35 % H	im Mittel	
66,91 % C	8,47 % H	66,83 % C	8,41 % H

woraus sich, Sauerstoff als 6, die empirische Formel $C_{21,56}H_{32,32}O_6$ ergibt.

Eine anderweitige Reinigung des Sapogenins wurde über die, nicht rein isolierte, Acetylverbindung weg erstrebt.

5 g des Sapogenins wurden mit 10 g geschmolzenem Natriumacetat und 30 g Essigsäureanhydrid 5 Stunden lang am Rückflußkühler gelinde gekocht. Das Gemisch wurde heiß in Wasser gegossen und die erhärtete Acetylverbindung mit Sodalösung gekocht. Das regenerierte Sapogenin wurde in Chloroform gelöst, in der Hitze mit Tierkohle entfärbt und aus dem Filtrate das Lösungsmittel abdestilliert.

0,1386	Substanz gaben	0,3330	CO_2	und	0,0986	H_2O
0,1606	„ „	0,3890	„	„	0,1138	„
0,1064	„ „	0,2558	„	„	0,0740	„

Gefunden:

65,53 % C	7,96 % H	im Mittel
66,06 % C	7,93 % H	65,71 % C
65,55 % C	7,78 % H	7,89 % H

hieraus resultiert die empirische Formel $C_{19,93}H_{28,51}O_6$.

Verhalten des Sapogenins in alkoholischer Lösung gegen Salzsäure.

Eine Lösung von 5 g Sapogenin in 50 g absolutem Alkohol wurde unter Eiskühlung mit Salzsäuregas gesättigt, wobei die Farbe dunkelbraun, und unter Trübung die Flüssigkeit gallertartig dickflüssig wurde. Nach 24 Stunden wurde mit absolutem Alkohol verdünnt und filtriert. Auf dem Filter blieb eine weißliche Gallerte zurück, die nach sorgfältigem Auswaschen auf Ton getrocknet wurde. Dann wurde der Rückstand in Chloroform mit Tierkohle entfärbt, die Lösung in absolutem Alkohol filtriert, das Chloroform durch Erhitzen möglichst verjagt, mit Alkohol verdünnt und die Abscheidung auf Ton getrocknet. Dieses nur in geringer Menge entstandene

Produkt ist ein gelblichweißes Pulver ohne Struktur, löslich in Chloroform, schwer löslich in Eisessig, unlöslich in Äther, Alkohol, Ligroin und Wasser.

0,1100 Substanz gaben 0,2892 CO_2 und 0,0906 H_2O

Gefunden:

71,7% C 9,21% H = $C_{30,13}H_{45,98}O_6$.

Der vom Alkohol gelöste Teil wurde durch Wasserzusatz ausgefällt, nochmals in Alkohol gelöst, mit Tierkohle gekocht und durch Einfiltrieren in Wasser wieder gefällt. Dieses zweite Produkt ist ein weißes amorphes Pulver, löslich in Alkohol, Eisessig und Chloroform, schwerer in Äther, unlöslich in Ligroin und Wasser

0,1076 Substanz gaben 0,2760 CO_2 und 0,0802 H_2O
0,1512 „ „ 0,3860 „ „ 0,1150 „

Gefunden:

		im Mittel	
70,11% C	8,34% H		
69,63% C	8,51% H	69,87% C	8,43% H

woraus sich die empirische Formel ergibt $C_{25,68}H_{37,06}O_6$.

Die von dem alkohollöslichen Produkte abfiltrierte wässerig-alkoholische Flüssigkeit besaß einen starken, fettsäureesterartigen Geruch, ähnlich dem der Reinetten. Eine Isolierung des riechenden Prinzipes wurde zwar versucht, doch wohl der geringen Menge wegen nicht erreicht.

Einwirkung von heißer alkoholischer Salzsäure auf Sapogenin.

10 g Sapogenin wurden in 100 g einer Flüssigkeit, bestehend aus 75 g abs. Alkohol, 10 g Salzsäuregas und 15 g Wasser, gelöst und $2^1/_2$ Stunden über kleiner Flamme am Rückflußkühler gekocht, wobei die anfangs gelbliche Farbe in Dunkelbraun überging. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit in viel Wasser gegossen, wodurch ein gelblichweißer Körper abgeschieden wurde.

Das Filtrat besaß starken, obstartigen, an Reinetten und Ananas erinnernden Geruch. Es wurde zur Untersuchung auf ev. noch abgespaltenen Zucker neutralisiert, eingedampft, und der Rückstand mit Alkohol ausgekocht. Dieser Auszug wurde wieder zur Trockne gebracht, mit abs. Alkohol heiß ausgezogen, und das Filtrat nochmals eingeengt. Dieser Rückstand reduzierte Fehlingsche Lösung und lieferte mit Salpeter-

säure oxydiert eine für eine Schmelzpunktsbestimmung eben hinreichende Menge Schleimsäure von 216°. Dieser Zucker ist also Galactose.

Der oben abgeschiedene gelblichweiße Körper wurde in Alkohol gelöst, nach dem Filtrieren durch Wasser gefällt und gut ausgewaschen, dann nochmals in Alkohol gelöst und mit Tierkohle längere Zeit gekocht. Aus dem wenig gelb gefärbten Filtrate schieden sich auf Zusatz von Wasser fast weiße Flocken aus, die auf Ton abgepreßt wurden. Das Produkt ist ein weißes, nicht krystallinisches Pulver, löslich in Alkohol und Eisessig, schwerer in Äther und Chloroform, unlöslich in Ligroin und Wasser.

Die Verbrennungen ergaben folgende Werte:

0,1198 Substanz gaben 0,3204 CO_2 und 0,0998 H_2
0,1652 „ „ 0,4394 „ „ 0,1376 „
0,1394 „ „ 0,3710 „ „ 0,1220 „

Gefunden:

72,94% C	9,32% H	im Mittel
72,54% C	9,32% H	72,69% C
72,58% C	9,79% H	9,48% H

Dieser Befund entspricht der empirischen Formel $C_{32.76} H_{50.87} O_6$.

Drei Molekulargewichtsbestimmungen wurden nach der Landsbergerschen Methode teils in Chloroform, teils in Äthylalkohol, dessen Konstante 11,5 beträgt, ausgeführt.

Substanz	Menge des Lösungsmittels	Siedepunkts-Erhöhung	Gef. Mol.-Gew.
0,4840	23,7882 $CHCl_3$	0,14°	532
0,5054	10,1484 C_2H_5OH	0,1°	573
0,6186	9,5552 C_2H_5OH	0,135°	552

Die bei der Hydrolyse des Assamins entstehenden Zuckerarten.

Die bei der Spaltung des Assamins mit Schwefelsäure erhaltenen Filtrate wurden zur Entfernung der Säure mit Bleicarbonat erwärmt, mit Kohlensäure gesättigt und 24 Stunden stehen gelassen. Dann wurde filtriert, und das Filtrat anfangs auf dem Wasserbade, später im Exsikkator eingeengt. Die Zucker bilden nach zweimonatigem Stehen im Vakuum einen dicken, klaren,

braunen Sirup, in dem sich vereinzelt Krystalle zeigten, die sich als anorganische Beimengungen erwiesen. Die Gesamtmenge des Rückstandes betrug 47,286 %, von der aber noch 25,65 % Asche, die 8,16 % SO_4 enthielt, abzuziehen ist, so daß ein Rest von 35,16 % für Zucker bleibt.

Die Lösung der Zucker dreht das polarisierte Licht nach rechts; der Drehungswinkel wurde nach 24stündigem Stehen der Lösung bestimmt.

Es wurden zwei Lösungen angefertigt. Dieselben wurden durch Bleiessig von Schwefelsäure und färbenden Substanzen befreit, die Filtrate mit Natriumcarbonat entbleit und im Filtrate der Sodaüberschuß mit Salzsäure abgestumpft. Die so vorbereiteten Lösungen drehten bei 20° im 200 mm-Rohr

bei 3,036 % Zucker $+2°$
„ 1,2084 % „ $+0,8°$

woraus sich das spez. Drehungsvermögen zu

$$\alpha_D = +32,94° \text{ und } +33,1°$$

berechnet.

Bei der Oxydation des Zuckergemisches mit Salpetersäure 1,15 entstand Schleimsäure, deren Schmelzpunkt bei 216° lag. Eine Mischprobe mit reiner Schleimsäure schmolz bei 214°. Bei der Oxydation war gleichzeitig Oxalsäure entstanden.

Eine quantitative Bestimmung der Schleimsäure (69) ergab auffallend geringe Werte. 4,21 g reiner Zucker wurden in 60 ccm Salpetersäure 1,15 gelöst, auf dem Wasserbade unter Umrühren auf 20 ccm eingedampft, nach dem Erkalten mit Wasser verdünnt, und der 120 ccm betragenden Flüssigkeit 0,3916 Schleimsäure zugefügt. Nach ca. 3 Wochen wurde die Schleimsäure abfiltriert und gewogen. Nach Abzug obiger 0,3916 ergab sich eine Ausbeute von 0,51 Schleimsäure.

Durch den Nachweis der Schleimsäure ist einer der Spaltungszucker Galactose, deren Menge nach der Analyse in den 35,16 % der isolierten Zucker 5,5 g beträgt. (77,4 g Schleimsäure entsprechen 100 g Galactose.)

Außer Galactose konnte in dem Zuckergemisch eine Pentose nachgewiesen werden, dagegen gelang der Nachweis von Glucose bzw. Zuckersäure nicht.

Wird etwas des Zuckers mit Orcin-Salzsäure erhitzt, so tritt Grünfärbung ein unter Abscheidung grünblauer Flocken.

Werden diese nach dem Abfiltrieren in Alkohol gelöst, dann zeigt die grüne Flüssigkeit das für die Doppelverbindung Orcin-Furfurol charakteristische Band im orangegelben Teile des Spektrums.

Zur quantitativen Bestimmung der Pentose wurde nach B. Tollens und M. Krüger (70) verfahren.

Je 0,2846 Zucker wurden in einem 300 ccm-Kolben in 100 ccm 12%iger Salzsäure gelöst und im Ölbade so hoch erhitzt, daß in 10 bis 15 Minuten 30 ccm Destillat erhalten wurden, worauf die gleiche Menge 12%iger Salzsäure zugegeben wurde. Die Destillation wurde unterbrochen, wenn das Destillat Anilinacetat-Papier nicht mehr rötete. Dann wurde das Destillat mit einer Lösung von Phloroglucin in 12%iger Salzsäure versetzt und mit der gleichen Säure auf 400 ccm Flüssigkeit aufgefüllt. Nach gutem Umrühren wurde nach 24 Stunden filtriert, der Niederschlag mit 150 ccm Wasser gewaschen und 4 Stunden bei 100° getrocknet. Die gefundene Menge des Phloroglucids wurde zur Umrechnung auf Furfurol durch den kleinsten für 0,2 Phloroglucid angegebenen Divisor dividiert und mit dem Faktor für Arabinose bzw. Pentose multipliziert. Es ergaben sich so:

0,1042 Phloroglucid = 0,05725 Furfurol = 0,1314 Arabinose = 0,1197 Pentose.

0,1068 Phloroglucid = 0,05868 Furfurol = 0,1347 Arabinose = 0,1227 Pentose.

Für obiges 35,10 g Zuckergemisch berechnet sich:

16,24 g Arabinose bzw. 14,79 g Pentose und
16,64 g „ „ 15,16 g „

In den aus 100 g Assamin isolierten 35,16 g Zucker habe ich 5,5 g Galactose und 16,44 g (Pentose, angenommen als) Arabinose gefunden. Es verbleibt also ein Rest von 13,22 g. Eine Erklärung für diesen Restzucker kann noch nicht gegeben wurden. Es sei jedoch erwähnt, daß der quantitativen Bestimmung der Galactose Schwierigkeiten begegneten. Nach der Vorschrift soll die entstandene Schleimsäure 1 bis 2 Tage, besser 2 bis 3 Tage nach Ausführung der Oxydation zur Wägung gelangen. Bei der qualitativen Prüfung hatte sich in dieser Zeit noch keine Schleimsäure gebildet, sie begann erst nach 8 Tagen auszufallen, weshalb die quantita-

tive Bestimmung erst nach 3 Wochen zu Ende geführt wurde. Auf die ev. Übelstände macht V. Lippmann (71) auch aufmerksam: „Diese Methode ist sehr brauchbar; zu bemerken ist jedoch, daß die Anwesenheit großer Mengen fremder organischer Stoffe die Abscheidung der Schleimsäure häufig stört, oft sogar gänzlich hindert.“ Es könnte also leicht der Fall sein, daß nicht alle Schleimsäure zur Wägung kam. Wäre der Rest von 35,16 Zucker — 16,44 Arabinose = 18,72 alles Galactose, dann stimmt hiermit nicht das spez. Drehungsvermögen der Zucker überein; dasselbe würde sich zu $\alpha_D = +91,78^0$ berechnen, während im Mittel $\alpha_D = +33,02^0$ gefunden wurde. Übrigens fand v. Schulz (37) ganz ähnliche Verhältnisse bei dem Zucker der Sarsaparill-Saponine und des Saporubrins, bei letzterem $+23,67^0$ und sagt, daß Rotations- und Reduktionsvermögen kleiner sei als daß der Glucose.

Wollte man zur Erklärung der geringen Rechtsdrehung Zuckerzersetzungsprodukte nicht verantwortlich machen, so könnte dieselbe so ausgelegt werden, daß bei der Spaltung gleichzeitig ein linksdrehender Zucker, für den nur Lävulose in Betracht käme, entstände. Dann würden sich obige 35,16 g Zucker aus 16,44 g Arabinose, 5,5 g Galactose und 13,22 g Fructose zusammensetzen, und für dieses Gemisch berechnete sich eine spez. Drehung von $\alpha_D = +26,74^0$. Phenylosazone vom Schmelzp. 205⁰ sind verschiedentlich aus Saponinzuckern dargestellt worden, doch wurde für diese immer Glucose als der eine Generator benannt bzw. nachgewiesen.

Wenn auch gemäß der Drehung die Annahme von Fructose einiges für sich hat, so glaube ich nach Menge und Formel der Spaltungsprodukte des Assamins nicht an deren Existenz, und führe die geringe Rechtsdrehung lieber auf Beeinflussung durch Zersetzungsprodukte zurück. Denn wenn schon Arabinose und Galactose, deren Menge offenbar zu klein gefunden wurde, durch 3⁰/₀ige Schwefelsäure beim Erhitzen zersetzt werden, so zerfällt doch, wie bekannt, die Fructose dabei bedeutend leichter in Lävulinsäure.

In der Annahme, daß sich aus einem Molekül Assamin je ein Molekül Arabinose und Galactose bildet, berechnet sich die Galactose zu 27,86⁰/₀ und die Arabinose zu 23,22⁰/₀. $C_{22}H_{46}O_{15} + 2\,H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_5H_{10}O_5 + C_{19}H_{28}O_6$. Ist diese

Auffassung richtig, dann muß, wie schon erwähnt, Galactose und Arabinose verloren gegangen sein. Letztere wurde deshalb sofort nach Aufspaltung des Saponins bestimmt.

1,1262 (aschefrei gerechnetes) Assamin wurde in 100 ccm 12°/₀iger Salzsäure eine Stunde lang auf lebhaft siedendem Wasserbade am Rückflußkühler erhitzt, und nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit aus dem gleichem Kolben der Destillation unterworfen. Es wurden 0,2576 Phloroglucid erhalten, entsprechend 25,59 °/₀ Pentose bzw. 28,09 °/₀ Arabinose. Diese Zahl paßt sehr gut zu obiger Spaltungsformel, wenn man bedenkt, daß auch aus Hexosen Furfurol, wenn auch in geringer Menge, entsteht.

Anfügen will ich noch die Zahlen, die bei der quantitativen Bestimmung anderer Saponinzucker erhalten wurden:

P. Hoffmann (19) fand in der Quillayasäure 29,25 °/₀ Galactose; L. Rosenthaler (68) im Gypsophila-Saponin 30,81 °/₀, 35,81 °/₀ und 37,4 °/₀ Arabinose; O. May (20) im Sapindus-Rarak DC. Saponin 26,23 °/₀ und 26,31 °/₀ Arabinose.

Die Zahlen von O. May berechnen sich für Pentose (irrtümlich als Arabinose angegeben), während sich für Arabinose 28,58 °/₀ und 28,74 °/₀ ergibt. Dieser Befund stimmt dann sehr gut mit meinen Resultaten überein.

Trockendestillation des Sapogenins.

Je 5 g Sapogenin der Formel $C_{18,5}H_{27,2}O_6$ wurden in einem trockenen Kolben der Destillation unterworfen. Die Anwendung des Vakuums erwies sich als nicht zweckmäßig. Beim Erhitzen begann sich das Sapogenin gegen 90° zu zersetzen, und unter starkem Schäumen spaltete sich Kohlensäure und Wasser ab, das zwischen 100° und 130° übergeht. Ist alles Wasser abdestilliert, dann gerät der Kolbeninhalt in ruhiges Sieden. Zwischen 150° bis 250° destilliert ein bernsteingelbes Öl, zwischen 250° bis 290° ein grüngefärbtes Öl, und im Kühlrohre schieden sich aus dem Öle wenige lange, farblose Krystalle ab, deren Menge zur Isolierung zu gering war. Dann wurde ohne Thermometer mit starker Flamme weiter erhitzt, bis nichts mehr überging. Der Rückstand bestand in der Hauptsache aus Kohle neben teerartigen Produkten, deren rotbraune alkoholische Lösung grün fluorescierte. Die Menge des

Gesamtdestillates betrug 60% bis 65%. Ein Drittel davon bestand aus einer schwach gelb gefärbten wässerigen Lösung, das oben schwimmende Öl besaß braune Farbe.

Zur Trennung einzelner Bestandteile wurde das Destillat mit Äther aufgenommen und mit Wasser ausgeschüttelt. Die wässerige Flüssigkeit wurde filtriert und mit kleiner Flamme destilliert. Das sauer reagierende Destillat wurde nach dem Neutralisieren auf dem Wasserbade eingedampft, wobei sich Gelbfärbung einstellte. Der gelbliche Salzrückstand gab sowohl die Essigester- als auch die Kakodylreaktion, was für Essigsäure beweisend ist.

Die ätherische Lösung wurde wiederholt mit Natronlauge ausgeschüttelt, bis nichts mehr aufgenommen wurde, dann mit Wasser gewaschen und mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdunsten des Äthers restierten aus 20 g Sapogenin 5,35 g eines bräunlichen Öles, das bei der Rektifikation fortwährend steigende Siedepunkte zeigte, deren Grenzen wegen der geringen Menge nicht enger gezogen werden konnten. Es wurden drei Fraktionen von je ca. 1 g aufgefangen. Von 210° bis 250° destillierte ein helles, bernsteingelbes Öl, von 250° bis 270° ein wenig grünliches Öl und von 270° bis 290° ein grasgrün gefärbtes Öl. Als Rückstand hinterblieb ein braunes, schmieriges Öl.

Aus keiner Fraktion waren Krystalle zu erhalten, obwohl Temperaturen bis zu —30° angewandt wurden. Beim Aufbewahren nahmen alle Fraktionen infolge Verharzung dunklere Farbe an, und die grüne Farbe der höheren Destillate verschwand. Alle Öle, deren Geruch juchtenartig war, gaben mit konzentrierter Schwefelsäure Rotfärbung:

Fraktion I.

0,1048 Substanz gaben 0,3252 CO_2 und 0,0978 H_2O
0,1220 „ „ 0,3768 CO_2 „ 0,1132 H_2O

Gefunden:

84,63% C 10,44% H
84,23% C 10,38% H } im Mittel 84,43% C, 10,41% H = $C_{21,83}H_{31,94}O$

Fraktion II.

0,1654 Substanz gaben 0,5216 CO_2 und 0,1494 H_2O
0,1184 „ „ 0,3736 CO_2 „ 0,1114 H_2O

Gefunden:

86,01% C 10,1% H
86,06% C 10,52% H } im Mittel 86,04% C, 10,31% H = $C_{31,39}H_{44,79}O$

Fraktion III.

0,1188 Substanz gaben 0,3758 CO_2 und 0,1092 H_2O
0,1458 „ „ 0,4626 CO_2 „ 0,1330 H_2O

Gefunden:

$$\left.\begin{array}{ll} 86{,}27\,\%\ C & 10{,}28\,\%\ H \\ 86{,}53\,\%\ C & 10{,}2\,\%\ H \end{array}\right\}\ \text{im Mittel}\ \begin{array}{l} 86{,}4\,\%\ C \\ 10{,}24\,\%\ H \end{array} = C_{34,29}H_{48,39}O$$

Gemäß der Zusammensetzung können die ätherischen Öle ein Gemisch aus Sesquiterpenen mit Sesquiterpenalkoholen sein. Um ein bekanntes Glied dieser Verbindungen zu fassen bzw. darzustellen, wurden verschiedene Operationen vorgenommen, die jedoch alle nicht, vielleicht wegen des geringen Materials, zum Ziele führten.

Fraktion I gab weder mit Brom, noch mit Salzsäure, noch mit salpetriger Säure ein festes Produkt; auch durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure blieb die Zusammensetzung im wesentlichen unverändert.

Fraktion II lieferte bei dem Versuche, mittels Salpetersäure Terpinhydrat zu erhalten, hauptsächlich Oxalsäure.

Fraktion III wurde der Reduktion unterworfen und zu diesem Zwecke über Zinkstaub destilliert. Das Destillat wurde in ein zwischen 240° bis 270° siedendes hellgelbes Öl und in ein zwischen 270° bis 300° siedendes gelbes Öl getrennt. Der Rückstand ist braun, teerartiger Natur.

Fraktion 240° bis 270°.

0,1528 Substanz gaben 0,5094 CO_2 und 0,1198 H_2O

Gefunden:

90,92 % C 8,78 % H $= C_{7,58}H_{8,71}$

Fraktion 270° bis 300°.

0,1112 Substanz gaben 0,3386 CO_2 und 0,0786 H_2O
0,1242 „ „ 0,3806 CO_2 „ 0,0908 H_2O

Gefunden:

$$\left.\begin{array}{ll} 83{,}05\,\%\ C & 7{,}91\,\%\ H \\ 83{,}58\,\%\ C & 8{,}18\,\%\ H \end{array}\right\}\ \text{im Mittel}\ \begin{array}{l} 83{,}32\,\%\ C \\ 8{,}05\,\%\ H \end{array} = C_{12,85}H_{14,81}O$$

Die Fraktion 240° bis 270° erwies sich also als frei von Sauerstoff, doch konnte an eine Aufklärung über die Art der Kohlenwasserstoffverbindung wegen mangelnden Materials nicht gedacht werden.

Die alkalische Ausschüttelung obiger Öle wurde mit Wasser verdünnt, filtriert, mit Kohlensäure gesättigt und mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt, das Filtrat getrocknet und eingedunstet. Als Rückstand

blieb eine geringe Menge eines hellbraunen, teerartig riechenden Phenoles, das die Millonsche Reaktion gab, mit Brom jedoch kein festes Produkt lieferte. Eisenchlorid rief keine Färbung hervor. Der Siedepunkt konnte nicht bestimmt werden.

0,1108 Substanz gaben 0,2954 CO_2 und 0,0670 H_2O
0,1490 „ „ 0,3988 CO_2 „ 0,0950 H_2O

Gefunden:

72,71 % C 6,76 % H
73,00 % C 7,13 % H } im Mittel 72,86 % C, 6,95 % H

woraus sich die empirische Formel $C_{6.07}H_{6.9}O_{1.26}$ berechnet.

Die vom Phenol befreite Sodalösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, mit Natriumsulfat gesättigt und ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Verdunsten des Äthers restierte eine leicht bewegliche, gelbliche, stark nach Fettsäuren riechende Flüssigkeit. Wird wenig davon mit Alkohol und Schwefelsäure erhitzt, so tritt derselbe Geruch auf wie bei der weiteren Spaltung des Sapogenins mit alkoholischer Salzsäure.

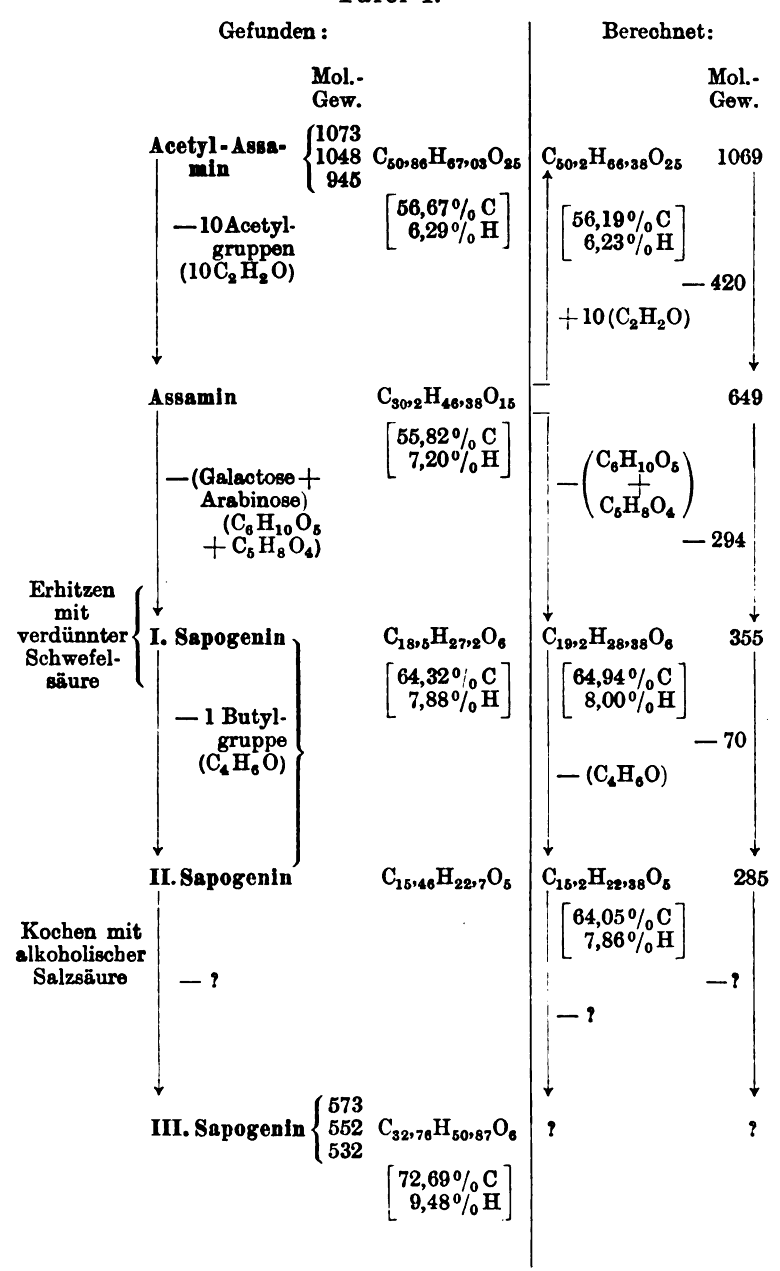
Die Säure wurde durch Destillation mit Wasserdampf gereinigt, das Destillat mit Natronlauge genau neutralisiert (die flüchtigen Säuren aus 20 g Sapogenin erforderten zur Neutralisation 70 ccm $^n/_2$-Alkali) und die Salzlösung auf dem Wasserbade eingedampft. Die Natronsalze wurden in wenig Wasser gelöst, mit Äther nochmals ausgeschüttelt und kalt mit Silbernitrat versetzt. Bei der fraktionierten Fällung gingen durch Zerbrechen des Becherglases die Fettsäuren verloren, so daß die Untersuchung leider nicht fortgesetzt werden konnte.

Die Ergebnisse der chemischen Untersuchung des Assamins lassen sich in folgender Tafel I (S. 330) zusammenfassen.

Zur Erklärung dieser Tafel sind folgende Erläuterungen angebracht.

Im Assamin-Molekül sind Galactose, Arabinose und ein leicht abspaltbarer Fettsäurerest (wahrscheinlich Buttersäure in esterartiger Bindung) enthalten. Beim Kochen mit verdünnter Säure wird nun nicht zuerst der Zucker oder zuerst die Fettsäure befreit, sondern beide Phasen laufen nebeneinander, so daß ein Sapogeningemisch (I + II) entsteht, dessen einer Teil frei von Zucker, ein zweiter Teil auch frei von Fettsäure ist, während ein dritter kleiner Teil noch Zucker gebunden hält. Diese Sapogenine entziehen sich durch

Tafel I.


Gefunden:
Berechnet:
Mol.-Gew.
Mol.-Gew.
Acetyl-Assamin
1073
1048
945
$C_{50,86}H_{67,03}O_{25}$
$C_{50,2}H_{66,38}O_{25}$
1069
56,67 % C
6,29 % H
56,19 % C
6,23 % H
— 10 Acetylgruppen ($10 C_2H_2O$)
— 420
+ 10 (C_2H_2O)
Assamin
$C_{30,2}H_{46,38}O_{15}$
649
55,82 % C
7,20 % H
— (Galactose + Arabinose) ($C_6H_{10}O_5$ + $C_5H_8O_4$)
— ($C_6H_{10}O_5$ + $C_5H_8O_4$)
— 294
Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure
I. Sapogenin
$C_{18,5}H_{27,2}O_6$
$C_{19,2}H_{28,38}O_6$
355
64,32 % C
7,88 % H
64,94 % C
8,00 % H
— 1 Butylgruppe (C_4H_6O)
— 70
— (C_4H_6O)
II. Sapogenin
$C_{15,46}H_{22,7}O_5$
$C_{15,2}H_{22,38}O_5$
285
64,05 % C
7,86 % H
Kochen mit alkoholischer Salzsäure
— ?
— ?
— ?
III. Sapogenin
573
552
532
$C_{32,76}H_{50,87}O_6$
?
?
72,69 % C
9,48 % H

ihre Unlöslichkeit in Wasser der weiteren Hydrolyse. Vollkommene Spaltung tritt erst ein durch Säure in alkoholischer Lösung, wobei gleichzeitig eine dritte Phase statthat; wie diese dritte Hauptspaltung vor sich geht, entzieht sich meiner Kenntnis. Besonders kompliziert sich dieselbe durch den Befund des Molekulargewichtes. In der Annahme, daß irgend ein Komplex abgespalten würde, müßte das Molekül des Sapogenins III kleiner sein als das berechnete des Sapogenins II, während fast das doppelte Molekulargewicht ermittelt wurde. Dies kann nur so erklärt werden, daß entweder beim Kochen des Sapogenins II mit alkoholischer Salzsäure unter Abspaltung eines Restes sich zwei Moleküle zu Sapogenin III kondensieren, oder daß das Molekulargewicht des Assamins, von dem die Berechnung für Sapogenin II ausgeht, zu verdoppeln ist. Denn es wäre denkbar, daß bei der Acetylierung irgend eine Brückenbindung aufgerissen, und das Molekül des Assamins dadurch gespalten würde. Vom Assamin selbst konnten leider keine Bestimmungen gemacht werden, da dasselbe in nicht genügend reinem Maße vorlag.

Die Spaltung des Assamins bei der Acetylierung wird fast gewiß durch die später ausgeführten Molekulargewichtsbestimmungen des Sapogenins I, die die Zahlen 697 und 681, also im Mittel 689, lieferten. Demnach würde dem Assamin die doppelte Formel $C_{60,4}H_{92,76}O_{30}$ zukommen, und aus dieser bei der Hydrolyse je 2 Moleküle Arabinose und Galactose entstehen. Aus dem Assamin bildet sich dann das Acetyl-Assamin durch Eintritt von 18 Acetylgruppen unter gleichzeitiger Aufreißung eines zwei identische Komplexe verbindenden Brückensauerstoffs und Bindung der dadurch frei gewordenen Valenzen durch die im Essigsäureanhydrid enthaltenen Reste CH_3CO und CH_3COO.

Ähnliche Verhältnisse zeigte das von G. Weiß (31) aus Rinde und Samen von Aegiceras majus dargestellte Saponin, das bei der Hydrolyse gleichfalls eine Pentose und Galactose lieferte. Bei der Acetylierung wurde das Saponinmolekül anscheinend nicht gespalten, und er erhielt die Verbindung $C_{102}H_{144}O_{48}$ mit den gefundenen Molekulargewichten 2016 und 2168, während sich 2136 berechnet; durch Titration ermittelte er 18 Acetylgruppen. Rückwärts schließend, da das Saponin

nicht in genügend reinem Zustande vorlag, bestimmte er aus der Acetylverbindung die Formel des Saponins selbst zu $C_{66}H_{108}O_{30}$.

Den gleichen Schwierigkeiten bei der Ermittelung der Molekulargrößen begegnete auch Kiliani beim Digitonin.

W. G. Boorsma (57) nimmt an, daß die Spaltung des Assamins nur in einer Phase verläuft, und daß der entstehende Zucker Glucose ist. Dieses ist jedoch nicht richtig, ebensowenig wie die aufgestellte Spaltungsformel

$$C_{18}H_{28}O_{10} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{12}H_{18}O_5.$$

Pharmakologischer Teil.

I. Verhalten von Assamin gegen rote Blutkörperchen.

Alle Blutarten wurden defibriniert verwendet. Die Verdünnungen wurden so hergestellt, daß z. B. 1 Vol. des betreffenden Blutes mit 99 Vol. 0,9%iger Kochsalzlösung vermischt wurde. Die Proben standen bei Stubentemperatur. Meist wurden 10 ccm des Blutgemisches angewandt. In manchen Versuchen wurde absichtlich das Blutserum nicht mitverwendet, weil dieses die Hämolyse in erheblichem Maße hindert. Das von Ransom (72) untersuchte Saponin wirkte in isotonischer Kochsalzlösung fünfmal stärker als in unverdünntem Serum. In solchen Fällen wird dann nicht von einem Blut-Kochsalzgemisch, sondern von einem Blutkörperchen-Kochsalzgemisch gesprochen. In den meisten Versuchen hier war aber das Serum hundertfach verdünnt und daher sein hemmender Einfluß recht gering.

In allen Versuchen wurden Kontrollgläschen aufgestellt, die nur das Gemisch, aber kein Saponin enthielten. In die nachfolgenden Protokolle sind nur solche Versuche aufgenommen worden, bei denen die Kontrolle nach mehrstündigem Stehen unten eine rote Schicht von Blutkörperchen von wenigen Millimeter Höhe zeigte, und darüber eine von Blutfarbstoff durchaus freie, farblose oder leicht gelbliche Schicht von ganz klarer Flüssigkeit.

Verdünnung des Blutes	Menge des Assamins	Völlige Lösung
	1. Kaninchenblut.	
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 20 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	" 50 "
"	0,001 + " = 1:10000	" 7 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 20 Stunden
2%	0,01 + " = 1:1000	" 40 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	" 90 "
"	0,001 + " = 1:10000	" $6^1/_2$ Stunden
"	0,0005 + " = 1:20000	nicht mehr
10%	0,01 + " = 1:1000	in 75 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	nicht mehr
	2. Meerschweinchenblut.	
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 20 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	" 2 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" $2^3/_4$ Stunden
"	0,0004 + " = 1:25000	" 6 "
"	0,0002 + " = 1:50000	nicht mehr
2%	0,01 + " = 1:1000	in 30 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	" 5 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 18 Stunden
	3. Katzenblut.	
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 20 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	" $4^1/_2$ Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	nicht mehr
2%	0,01 + " = 1:1000	in 35 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	" 40 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	nicht mehr
	4. Hundeblut.	
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 35 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	" 50 "
"	0,001 + " = 1:10000	" 7 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 2 Stunden
2%	0,01 + " = 1:1000	" 45 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	" 60 "
"	0,001 + " = 1:10000	" 55 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 23 Stunden
10%	0,01 + " = 1:1000	" 3 Minuten
"	0,005 + " = 1:2000	" 3 Stunden
"	0,001 + " = 1:10000	nicht mehr
	5. Pferdeblut.	
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 30 Sekunden
"	0,005 + " = 1:2000	" 35 "
"	0,001 + " = 1:10000	" $2^1/_2$ Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 16 "
"	0,00025 + " = 1:40000	" 2 Stunden
"	0,0001 + " = 1:100000	nicht mehr

Verdünnung des Blutes	Menge des Assamins	Völlige Lösung
2 %	0,01 + „ = 1:1000	in 40 Sekunden
„	0,005 + „ = 1:2000	„ 50 „
„	0,001 + „ = 1:10000	„ 15 Minuten
„	0,0005 + „ = 1:20000	„ 14 Stunden
10 %	0,01 + „ = 1:1000	„ 55 Sekunden
„	0,005 + „ = 1:2000	„ 4 Minuten
„	0,001 + „ = 1:10000	nicht mehr

6. Schweineblut.

1 %	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 75 Sekunden
„	0,005 + „ = 1:2000	„ 90 „
„	0,001 + „ = 1:10000	„ 20 Minuten
„	0,0005 + „ = 1:20000	„ 6 Stunden
2 %	0,01 + „ = 1:1000	„ 1½ Minuten
„	0,005 + „ = 1:2000	„ 2¼ „
„	0,001 + „ = 1:10000	„ 8¾ Stunden
„	0,0005 + „ = 1:20000	nicht mehr
10 %	0,01 + „ = 1:1000	in 2½ Minuten
„	0,005 + „ = 1:2000	„ 1 Stunde
„	0,001 + „ = 1:10000	nicht mehr

7. Menschenblut.

1 %	0,01 + 10 ccm = 1:1000	in 15 Sekunden
„	0,002 + „ = 1:5000	„ 30 „
„	0,001 + „ = 1:10000	„ 60 „
„	0,0005 + „ = 1:20000	„ 13 Minuten, leicht getrübt
„	0,0002 + „ = 1:50000	nicht mehr
2 %	0,01 + „ = 1:1000	in 20 Sekunden
„	0,002 + „ = 1:5000	„ 45 „
„	0,001 + „ = 1:10000	„ 2½ Minuten
„	0,0005 + „ = 1:20000	nicht mehr
5 %	0,01 + „ = 1:1000	in 50 Sekunden
„	0,002 + „ = 1:5000	„ 1 Stunde, leicht getrübt
„	0,001 + „ = 1:10000	nicht mehr

Das Ergebnis dieser sieben Versuche lautet dahin, daß das Assamin ein starkes Hämolyticum ist.

Die Hämolyse durch Saponine führen Raymond Foss Bacon und Harry F. Marshall (73) auf physikalische Vorgänge zurück. Denn durch Saponin wird, wie nachgewiesen, die Leitfähigkeit einer Salzlösung beträchtlich vermindert, so daß, da das Saponin nicht oder nur schwer dialysabel ist, ein Strom aus den Blutkörperchen nach außen auftreten muß, der so heftig ist, daß die Peripherie gesprengt wird.

Mit Neuberg und Reicher (74) teile ich die Ansicht, daß man die hämolytischen Substanzen wohl in zwei Kategorien bringen muß: I. Gruppe der hämolytischen Fermente; diese gehören zu den Lipasen und wirken durch Lecithin- und Fettspaltung auf die Blutkörperchen als echte Enzyme. II. Gruppe der physikalisch und (oder) chemisch wirkenden Stoffe; diese Gruppe, zu der u. a. Alkalien, Säuren, Äther, Wasser und Saponin gehören, in Unterabteilungen zu gliedern, ist nicht gut möglich, da einzelne Hämolytica sowohl chemisch als auch physikalisch wirken.

Am empfindlichsten gegen Assamin erwiesen sich die Blutkörperchen des Meerschweinchens, die in 1%iger Lösung noch in einer Verdünnung 1:25000 gelöst wurden. Bei Pferdeblut ergab sich zwar noch bei 1:40000 völlige Hämolyse; doch wird bei der Defibrination, die nicht von mir selbst vorgenommen war, wohl eine Schädigung der roten Blutkörperchen stattgefunden haben. Dies ist besonders deshalb anzunehmen, da ja Pferdeblut reich an für Saponin antihämolytisches Cholesterin ist.

8. Versuch mit ganz frischem Karpfenblut, 5%ig.

I.	10 ccm als Kontrolle			
II.	„	+ 0,02	Assamin	= 1:500
III.	„	+ 0,01	„	= 1:1000
IV.	„	+ 0,001	„	= 1:10000
V.	„	+ 0,0005	„	= 1:20000
VI.	„	+ 0,00025	„	= 1:40000
VII.	„	+ 2 ccm Kochsalzlösung als Kontrolle.		

In Nr. II sofortige Lösung aller Körperchen, aber nicht der Kerne, so daß völlige Aufhellung erst nach vielen Stunden erfolgt.

In Nr. III nach 2 Minuten alle Körperchen gelöst; völlige Aufhellung wie bei II.

In Nr. IV nach 4 Stunden Auflösung der Körperchen wohl vollständig; Kerne noch nicht.

In Nr. V nach 15 Stunden völlige Auflösung der Körperchen, Kerne jetzt auch.

In Nr. VI keine Hämolyse merklicher Art.

9. Froschblut, 2%ig, verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung, die nicht für den Frosch (0,6%ig), sondern für den Warmblüter eingestellt ist, also für den Frosch etwas hypertonisch ist.

I. 10 ccm als Kontrollflüssigkeit. Sie setzt farblos ab.

II. 9 ccm + 1 ccm der Giftlösung = 1 mg Assamin. Nach $^{3}/_{4}$ Stunden ist die Hämolyse schon recht bemerklich, und ist auch nach 1 $^{3}/_{4}$ Stunden noch nicht bis zur völligen Klarheit fortgeschritten, weil offenbar

die Kerne nicht mitgelöst werden. Nach $4^1/_2$ Stunden haben sich die Kerne als farblose Masse zu senken angefangen.

Ergebnis: Assamin wirkt auch auf Froschblut sehr stark hämolytisch, aber der Endpunkt der Hämolyse läßt sich nicht genau bestimmen, da die Kerne später oder gar nicht bei kleiner Giftdose gelöst wurden.

10. Hämolyse in isotonischer Kochsalzlösung und Jodkaliumlösung; Katzenblut teils $5^0/_0$ig, teils $4^0/_0$ig.

A. Verdünnungsmittel: physiologische Kochsalzlösung.

I. 10 ccm $5^0/_0$iges Blut. Setzt farblos ab.

II. 9 ccm $5^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach $3^1/_2$ Stunden fast völlig klar gelöst.

III. 5 ccm $5^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach 4 Minuten völlige Hämolyse.

IV. 5 ccm $4^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach $3^1/_2$ Minuten völlige Hämolyse.

V. 10 ccm $4^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach 4 Stunden noch nicht völlig gelöst.

B. Verdünnungsmittel: $2{,}56^0/_0$ige Jodkaliumlösung.

I. 10 ccm $5^0/_0$iges Blut; setzt farblos ab.

II. 9 ccm $5^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach 36 Minuten völlig klare Hämolyse.

III. 5 ccm $5^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach 3 Minuten völlige Hämolyse.

IV. 5 ccm $4^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach $2^3/_4$ Minuten völlige Hämolyse.

V. 10 ccm $4^0/_0$iges Blut + 1 mg (= 1 ccm) Assamin. Nach 30 Minuten völlige Lösung.

Ergebnis: In der $2{,}56^0/_0$igen Jodkaliumlösung wirkt Assamin stärker als in physiologischer Kochsalzlösung, was mit den Versuchen von Rudolf Höber (75) übereinstimmt.

11. Einwirkung von Assamin auf Katzenblutkörperchen in $2{,}5^0/_0$iger Mischung.

I. 10 ccm Katzenblutkörperchengemisch als Kontrolle.

II. 10 ccm + 1 mg (= 1 ccm) Gift = 1:11000, aufgestellt $12^h\,35'$. Um $12^h\,45'$ beginnt die Aufhellung; um 3^h schon weit fortgeschritten, aber auch um 6^h noch nicht total, sondern erst über Nacht.

III. 10 ccm + 2 mg (= 2 ccm) Gift = 2:12000: binnen 5 Minuten totale Hämolyse.

IV. 10 ccm + 3 mg (= 3 ccm) Gift = 3:13000; innerhalb 30 Sekunden totale Hämolyse.

V. 10 ccm + 0,5 mg (= 1 ccm) Gift; aufgestellt $12^h\,36'$; um $12^h\,46'$ noch nichts; um 1^h fängt oben an sich leicht rotgefärbtes Serum abzusetzen. Um 3^h ist die rote Schicht dicker und deutlicher. Auch nach 24 Stunden nur mäßige Hämolyse.

VI. 10 ccm + 0,25 mg (= 1 ccm) Gift; aufgestellt $12^h\,48'$. Um 3^h

hat sich eine ganz klare, farblose Serumschicht abgeschieden. Nach 24 Stunden eben merkbare Hämolyse.

VII. 20 ccm + 0,25 mg (= 1 ccm) Gift; aufgestellt 1ʰ 5′. Um 3ʰ hat sich farbloses Serum abgeschieden. Nach 24 Stunden gar keine Wirkung.

12. Der gleiche Versuch in gleicher Verdünnung mit Meerschweinchenblutkörperchen.

I. 10 ccm Meerschweinblutkörperchengemisch als Kontrolle.

II. 10 ccm + 1 mg (= 1 ccm) Gift; nach 45 Minuten völlige Hämolyse.

III. 10 ccm + 2 mg (= 2 ccm) Gift; nach $1^1/_2$ Minuten völlige Hämolyse.

IV. 10 ccm + 0,5 mg (= 1 ccm) Gift; aufgestellt 3ʰ 45′.

V. 10 ccm + 0,25 mg (= 1 ccm) Gift; aufgestellt 3ʰ 48′. Bei IV und V um 6ʰ 30′ partielle Hämolyse, aber sehr schwach. Am folgenden Tage früh bei IV fast völlige Hämolyse und bei V nicht viel schwächer.

Ergebnis: Totale Hämolyse noch bei 1:11000, mögen nun Katzen- oder Meerschweinchenblutkörperchen verwendet werden; aber die „Inkubationszeit“, d. h. die Zeit bis zur völligen Wirkung beträgt 20 Stunden. Partielle Hämolyse noch bei 1:20000, ja bei 1:40000.

13. Einwirkung von Assamin in 1 %iger Lösung + 0,9 % Kochsalz auf das Blut der Kröte (Bufo variabilis).

Bringt man unter das Deckglas einen Tropfen Blut und läßt vom Rande her eine Spur Assaminlösung zufließen, so sieht man im

I. Stadium:

1. Viele rote Blutkörperchen „zerfließen“ einfach so, daß nur der Kern übrig bleibt.

2. Viele rote Blutkörperchen bekommen radiäre Streifungen, und erst dann lösen sie sich auf.

3. Einzelne rote Blutkörperchen quellen, so daß sie kugelrund werden; dann stoßen sie den Kern aus, und dann platzen sie.

Nachdem alle rote Blutkörperchen geschwunden sind, tritt ein

II. Stadium ein, in welchem die restierenden Kerne derselben zugrunde gehen. Sie pflegen meist Reste in Form von Bröckelchen zurückzulassen.

Alsdann folgt ein

III. Stadium, in dem auch die weißen Blutkörperchen zugrunde gehen. Die erste Einwirkung auf diese besteht darin, daß sie ihre Beweglichkeit verlieren und statt des granulierten Aussehens die Form einer kreisrunden Scheibe mit stark sichtbarer Grenzmembran bekommen. Gleichzeitig werden die Kerne sehr deutlich. Endlich zerfallen sie in Bruchstücke.

14. Einwirkung von Assamin auf Katzenblut bei Gegenwart von Fluornatrium.

Angewandt: 10 ccm Katzenblut + 165 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 25 ccm 4 %iger Fluornatriumlösung.

I. 10 ccm Gemisch + 1 ccm physiolog. Kochsalzlösung als Kontrolle,
II. „ „ + 10 mg (= 1 ccm) Assamin,
III. „ „ + 1 „ (= 0,1 „) „

Bei II erfolgt fast unmittelbar völlige Hämolyse und bei III nach wenigen Minuten völlige Hämolyse.

Ergebnis: Fluornatrium hindert selbst bei einer Konzentration von 1:200 die Saponinhämolyse nicht.

15. Einwirkung von Assamin auf Katzenblut bei Gegenwart von Fluornatrium und Blausäure.

Gemisch wie oben: 10 ccm Katzenblut + 165 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 25 ccm 4%iger Fluornatriumlösung.

I. 10 ccm Gemisch + 2 ccm physiolog. Kochsalzlösung als Kontrolle,
II. „ „ + 1 „ (= 1 mg) Gift + 1 ccm 1%iger Blausäurelösung,
III. „ „ + 1 „ (= 1 mg) „ + 1 ccm physiolog. Kochsalzlösung,
IV. „ „ + 1 „ (= 1 mg) „ + 1 ccm 1%iger Blausäurelösung,
V. „ „ + 2 „ physiolog. Kochsalzlösung als Kontrolle.

Zu IV wurde Saponin- und Blausäurelösung gemischt und erst nach 10 Minuten langem Stehen dem Blutgemisch zugesetzt.

Bei II und IV tritt $1^1/_2$ Minuten nach dem Mischen völlige Hämolyse ein, bei III etwas später.

Ergebnis: Blausäure (+ Fluornatrium) verhindert die Hämolyse durch Saponin nicht im mindesten; eher unterstützt sie die Hämolyse. Im Gegensatz dazu stehen die Beobachtungen J. Noguchis (76), daß die hämolytische Wirkung der Pankreaslipase durch Fluornatrium und durch Cyankalium noch in einer Verdünnung 1:10000 vollständig aufgehoben wird.

16. Hämolyse agglutinierten Blutes von Hund.

500 ccm 5%iger Mischung von Hundeblut mit physiologischer Kochsalzlösung wurden mit 25 ccm einer Bohnengiftlösung (10 g Bohnen mit 500 ccm Kochsalzlösung ausgezogen) versetzt, wobei sofort völlige Agglutination eintrat. Von diesem gleichmäßigen Gemisch wurden je 10 ccm geprüft mit

I. 0,01	Assamin	= 1:1000:	völlige Hämolyse	in 6 Minuten,
II. 0,005	„	= 1:2000:	„ „	„ $9^1/_2$ „
III. 0,0025	„	= 1:4000:	„ „	„ 25 „
IV. 0,001	„	= 1:10000:	„ „	„ $1^3/_4$ Stunde
V. 0,0005	„	= 1:20000:	„ „	nicht mehr

Das Stroma wurde nicht gelöst und blieb als weißer Bodensatz zurück.

Auf vollkommene Genauigkeit können diese Zahlen keinen Anspruch machen, da schon bei starkem Schütteln des agglutinierten Gemisches Blutfarbstoff in Lösung geht. Starkes Schütteln wurde deshalb vermieden und eine Mischung nur durch Umschwenken erreicht.

Assamin entzieht also dem aus Blutkörperchen und Bohnenagglutinin (Phasin) bestehenden Gerinnsel das darin mechanisch mit eingeschlossene Hämoglobin vollständig, so daß das Gerinnsel seine rote Farbe verliert. Eine Auflösung des Gerinnsels erfolgte aber nicht. Von einer antidotarischen Wirkung gegenüber dem Bohnenagglutinin ist also keine Rede.

17. Einwirkung von Assamin auf mit Formalin behandeltes Kaninchenblut.

50 ccm 35%iger Formaldehydlösung, 50 ccm Kaninchenblut und 400 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden gemischt, 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur belassen und die Mischung zentrifugiert. Nach Abgießen der überstehenden farblosen Flüssigkeit wurden die Blutkörperchen noch zweimal mit hinreichender Menge Kochsalzlösung gewaschen und wieder abgeschleudert und dann, entsprechend der angewandten Menge des Blutes, mit Kochzalzlösung auf 50 ccm aufgefüllt.

Von dieser Suspension wurde mittels Kochsalzlösung eine 1%ige Verdünnung hergestellt.

10 ccm + 0,01 Assamin = 1:1000: keine Hämolyse,
„ + 0,25 „ = 1:40 : „ „

Ergebnis: Die Membran der Blutkörperchen wird also auch aus Eiweiß bestehen, bzw. eiweißhaltig sein, da weder Cholesterin noch Lecithin das Aufheben der Hämolyse bewirken können. Für diese Ansicht spricht auch das Verhalten der gehärteten Blutkörperchen zu vegetabilischen Agglutininen, deren Wirkung durch mäßiges Härten zwar modifiziert, aber keineswegs ganz aufgehoben wird. Die Hämolyse wird eben verhindert durch das starre Häutchen von gehärtetem Eiweiß; die Umwandlung des Eiweißes in eine klebrige Modifikation, wie die Agglutination sie verlangt, kann aber noch an dem starren Häutchen, wenn auch unvollkommen, vor sich gehen.

18. Gleicher Versuch mit Katzenblutkörperchen.

Unter Formalin für 24 Stunden gehaltene Katzenblutkörperchen wurden vom Formalin durch Abgießen und Waschen befreit und dann mit physiologischer Kochsalzlösung so stark verdünnt, daß sie genau einer 5%igen Katzenblutlösung entsprechen. Dieses Gemisch wird benutzt.

I. 10 ccm + 1 ccm physiolog. Kochsalzlösung,
II. „ + 1 „ (= 10 mg) Assaminlösung,
III. „ + 2 „ (= 20 „) „
IV. „ + 2 „ physiolog. Kochsalzlösung.

Nach 24 Stunden ist zwischen den vier Gläschen gar kein Unterschied zu sehen, sondern alle vier haben farblos abgesetzt.

Ergebnis: Saponine wirken auf gehärtete Blutkörperchen, auch der Katze, nicht mehr ein. Da diese am empfindlichsten sind, dürfte das Ergebnis für alle Blutarten gelten.

19. Wiederholte Benutzung von Assamin zur Hämolyse.

Um zu prüfen, ob die Stromata der Blutkörperchen das Saponin chemisch an sich binden oder wenigstens durch Adsorption verankern,

wurde nach eingetretener Hämolyse, das gelöste bzw. fein suspendierte Eiweiß durch Erhitzen entfernt und die klar filtrierte Lösung von neuem geprüft, indem die gleiche Menge Blutkörperchen wieder zugesetzt wurde. Zum Versuche wurden Katzenblutkörperchen benutzt.

Verdünnung d. Blutkörper.	Menge des Assamins	I löst	II löst
1%	0,01 + 10 ccm = 1:1000	augenblicklich	in 20 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	in $1\,^3/_4$ Minuten	" 28 Minuten
"	0,0005 + " = 1:20000	" 3 "	unvollkommen
"	0,0004 + " = 1:25000	" 55 "	nicht mehr
"	0,0002 + " = 1:50000	nicht mehr	" "
2%	0,01 + " = 1:1000	augenblicklich	in 25 Sekunden
"	0,001 + " = 1:10000	in 3 Minuten	unvollkommen
"	0,0005 + " = 1:20000	" $1\,^1/_3$ Stunden	nicht mehr
10%	0,01 + " = 1:1000	in 45 Sekunden	" "
"	0,006 + " = 1:1650	" $1\,^1/_4$ Minuten	" "
"	0,005 + " = 1:2000	" $1\,^1/_2$ "	" "
"	0,002 + " = 1:5000	" 45 "	" "
"	0,001 + " = 1:10000	nicht mehr	" "

Die serumfreien Blutkörperchen waren gewonnen durch Abhebern nach 12stündigem Absetzen. Zu II wurden die erhaltenen Lösungen I 10 Minuten lang in siedendem Wasser erhitzt, vom abgeschiedenen, fadenförmig-flockigen Eiweiß durch Filtration befreit und die farblosen Filtrate mit konz. serumfreien Katzenblutkörperchen, im gleichen Verhältnis wie in I, versetzt.

Es ergibt sich in allen Versuchen eine merkbare Abnahme der hämolytischen Kraft; das ausfallende Cholesterin bindet oder das Eiweiß reißt Saponin mit nieder.

L. und P. v. Liebermann (55) nehmen an, daß sowohl bei der Agglutination als auch bei der Hämolyse der Saponine eine chemische Verbindung des Agglutinins, bzw. des Saponins mit dem Stroma entsteht, die daher im Zentrifugenbodensatz enthalten ist. Extrahiert man diesen mit spurweis angesäuerter physiologischer Kochsalzlösung, so geht das Saponin in Lösung und kann nun nach dem Neutralisieren wieder gebraucht werden.

20. Einwirkung von Assamin auf Katzenblut, Kaninchenblut und Pferdeblut, in Pferdeserum gelöst.

Pferdeblutserum löst bei 38° auch ohne Saponin, also schon an sich, die Körperchen von Katzenblut, in viel geringerem Maße auch die des Kaninchenblutes. Bei Stubentemperatur wird diese Wirkung wohl auch etwas bemerkbar sein.

Zu den Versuchen wurde Assamin 1:100 in Pferdeblutserum gelöst, die nötigen Verdünnungen ebenfalls mit Serum hergestellt.

Verd. des Blutes	Menge des Assamins	Katzenblut, völlige Lösung	Kaninchenblut, völlige Lösung	Pferdeblut, völlige Lösung
1%	0,01 + 10 ccm = 1 : 1000	in 65 Sek.	in $1^1/_2$ Min.	in $1^1/_3$ Min.
„	0,005 + „ = 1 : 2000	in $2^3/_4$ Min.	in $4^1/_4$ „	in $3^1/_3$ „
„	0,001 + „ = 1 : 10000	in 24 Stunden, aber unvollständig	nicht mehr	nicht mehr
2%	0,01 + „ = 1 : 1000	in $1^2/_3$ Min.	in $2^1/_4$ Min.	in $1^2/_3$ Min.
„	0,005 + „ = 1 : 2000	in $6^1/_4$ Min.	in 7 Min.	in 5 Min.
„	0,001 + „ = 1 : 10000	nicht mehr	nicht mehr	nicht mehr
10%	0,01 + „ = 1 : 1000	in 15 Min.	in 16 Min.	in 6 Min.
„	0,005 + „ = 1 : 2000	nicht mehr	nicht mehr	in $1^2/_3$ Std.
„	0,001 + „ = 1 : 10000	„ „	„ „	nicht mehr

Bedingt durch den reichlichen Gehalt an Cholesterin bewirkt also Pferdeblutserum eine bedeutende Verzögerung bzw. ein völliges Aufheben der Hämolyse, was zu den oben angeführten Versuchen von Ransom (72) stimmt. Er hat nämlich festgestellt, daß tierisches Cholesterin auf Saponine entgiftend wirkt, und zwar bedingt durch chemische Momente. Auch Kobert (27) sowie Madsen und Noguchi (77) gelangten infolge ihrer Versuche zu derselben Ansicht. Für Phytosterin liegen zwei analoge Versuchsreihen vor: durch Hausmann (78) sowie durch Abderhalden und Le Count (79). Daß auch Assamin durch Phytosterin entgiftet wird, geht aus folgendem Versuche hervor.

21. Entgiftung von Assamin durch Phytosterin.

Je 10 ccm einer 1%igen Phytosterin-Ätherlösung und einer 1%igen Lecithin-Ätherlösung wurden mit 10 ccm einer 1%igen Assamin-Kochsalzlösung einen Tag lang bei 30° unter häufigem Schütteln stehen gelassen. Dann wurde der Äther durch Erwärmen verjagt und filtriert. Von den auf 10 ccm aufgefüllten Filtraten wurden Verdünnungen hergestellt und gegen je 10 ccm 1%iges Hundeblut geprüft, wobei reine Saponinlösung als Kontrolle diente.

Menge des Assamins	Reines Assamin, Lösung	Lecithin-Assamin, Lösung	Cholesterin-Assamin, löst
0,01 + 10 ccm = 1 : 1000	in 20 Sek.	in 20 Sek.	nicht
0,005 + „ = 1 : 2000	in 28 „	in 28 „	„
0,001 + „ = 1 : 10000	in 2 Min.	in $2^1/_4$ Min.	„

Lecithin hindert also die Hämolyse nicht, wohl Phytosterin (aus Ricinusöl gewonnen). Um die Grenze der Entgiftung festzustellen, wurden verschieden starke Phytosterin-Ätherlösungen mit je 10 ccm 1%iger Assaminlösung wie oben gemischt und die Filtrate geprüft. Von letzteren wurde je 1 ccm, entsprechend 0,01 g Assamin mit 10 ccm 1%igen Menschenblutes versetzt.

Verhältnis des Assamins zu Phytosterin	Davon angewandt	Löst
10 ccm Assaminlösung + 0,05 Phytosterin	1 ccm + 10 ccm 1 % iges Blut = 1:1000	nicht mehr in 70 Sek.
„ „ + 0,01 „		„ 45 „
„ „ + 0,005 „		„ 40 „
„ „ + 0,001 „		„ 35 „
„ „ + 0,0005 „		„ 30 „
„ „ + 0,00025 „		„ 30 „
„ „ + 0,0001 „		

0,05 Phytosterin entgiften also 0,1 Assamin.

Vor kurzem gelang es Windaus (66), den exakten Nachweis zu führen, daß sich tierische und pflanzliche Cholesterine mit Saponinen zu ungiftigen Cholesteriden verbinden, in denen die beiden Komponenten in äquimolekularen Mengen enthalten sind. Danach würde für die Entgiftung von 0,1 Assamin, unter Zugrundelegung der Formel $C_{30}H_{46}O_{15}$, 0,0598 Phytosterin erforderlich sein, während ich, wie oben gesagt, 0,05 Phytosterin gebrauchte. Sollte dem Assamin die Formel $C_{60}H_{92}O_{30}$ zukommen, dann würde nur 0,0299 Phytosterin nötig sein.

Um nun die Grenze der Entgiftung festzustellen, wurde obige mit 0,05 Phytosterin entgiftete Assaminlösung mit 1 %iger Assaminlösung so verdünnt, daß 10 ccm der Lösung 0,025 bzw. 0,01 Phytosterin entsprachen. Hiervon wurde je 1 ccm, wie oben, mit 10 ccm 1 %igen Blutes geprüft, wobei im ersteren Falle in 40 Sekunden, im letzteren in 35 Sekunden vollkommene Hämolyse eintrat.

Daraus ist zu schließen, daß durch einfaches Mischen einer entgifteten Saponinlösung mit Saponinlösung der ev. Überschuß des Entgiftungsmittels das weiter zugesetzte Gift nicht mit Beschlag belegt, sondern daß letzteres giftig bleibt. Denn bei dem zweiten Versuche hätte erst nach 70 Sekunden Hämolyse eintreten dürfen, fand aber tatsächlich schon nach 35 Sekunden statt.

Dabei ist allerdings zu bedenken, daß das Saponin in wässeriger Lösung auf das wasserunlösliche Cholesterin bzw. Phytosterin nicht genügend einwirken kann. Nach Windaus geschieht diese Einwirkung am besten in alkoholischer Lösung.

Daß das Assamin durch die Behandlung mit Phytosterin stark entgiftet ist, zeigte der Versuch mit Kaulquappen. Während dieselben in einer nicht entgifteten Assaminlösung 1:1000 nach 20 bis 25 Minuten eingingen, erfolgte der Tod bei gleicher Konzentration bei 0,05 Phytosterin erst nach 6 Stunden, bei 0,01 Phytosterin nach 1 1/2 Stunden.

22. Entgiftung von Assamin durch Cholesterin.

Die Entgiftung wurde ebenso wie mit Phytosterin vorgenommen.

Verhältnis des Assamins zu Cholesterin	Davon angewandt	Löst
10 ccm 1 % ige Assaminlös. + 0,1 Cholesterin	1 ccm : 10 ccm 1 % iges Kaninchen-blut = 1 : 1000	nicht
„ „ „ + 0,05 „		„
„ „ „ + 0,01 „		in 65 Sek.
„ „ „ + 0,005 „		„ 40 „

Die erstere, mit 0,1 Cholesterin entgiftete Assaminlösung wurde auf einer Uhrschale eingedunstet, der Rückstand mit Äther gewaschen, um ev. mechanisch beigemengtes Cholesterin zu entfernen, und mit Wasser auf das ursprüngliche Volum aufgefüllt. Auch jetzt rief diese Lösung keine Hämolyse hervor.

In die drei anderen, mehr oder weniger entgifteten Assaminlösungen wurden nach der Verdünnung 1 : 1000 Kaulquappen eingesetzt. Es zeigte sich auch in diesem Versuche eine starke Herabsetzung der Giftigkeit des Assamins.

L. und P. v. Liebermann (55) konnten die entgiftende Wirkung des Cholesterins auf ein Guajacsaponin, welches sauer reagierte und daher sicher Guajacsaponinsäure enthielt, bei Versuchen mit Schweineblutkörperchen nicht bestätigen. Offenbar haben sie dieses Fehlresultat nur bekommen, weil sie das Saponin nicht mit der Cholesterinlösung kochten. Jedenfalls konnte Kobert das Guajacsaponin ebenso leicht durch Cholesterin entgiften als beliebige andere Saponine.

23. Fernerer Versuch der Entgiftung von Assamin durch Cholesterin.

2 g Assamin wurden in 20 ccm Wasser gelöst mit 100 ccm einer 2 % igen Cholesterin-Ätherlösung 3 Tage lang bei 35° unter öfterem Schütteln stehen gelassen, wobei eine dicke Emulsion entstand. Dann wurde zur Verjagung des Äthers nach dem Verdünnen mit Wasser erwärmt und filtriert. Der Filterrückstand wurde nochmals in viel Wasser fein verteilt, längere Zeit geschüttelt, zentrifugiert und die vereinigten klaren Filtrate auf dem Wasserbade eingeengt. Die Flüssigkeit wurde dann kalt mit Äther extrahiert und auf dem Wasserbade eingedampft. Nach dem Trocknen bei 105° hinterblieb 0,56 g Rückstand, der in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurde. Hiervon wurde 1 ccm = 0,056 g Assamin mit 10 ccm 1 % igem Hundeblut versetzt. Es erfolgte, also in einer Konzentration von 1 : 180, keine Hämolyse.

Da nur 0,56 g Assamin wiedergewonnen waren, mußte der Rest = 1,44 g in den Cholesterinrückständen stecken. Dieselben wurden mit Wasser und Äther im Scheidetrichter geschüttelt; zur Beseitigung der Emulsion wurde die wässerige Flüssigkeit mit Kochsalz gesättigt, noch zweimal mit Äther ausgezogen und auf dem Wasserbade eingedampft. Neben Krystallen von Kochsalz blieb ein gelber Rückstand, der sich in wenig Wasser leicht löste. Die Lösung schäumte stark und reduzierte nach dem Erhitzen mit Salzsäure Fehlingsche Lösung.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß die Hauptmenge des Saponins an Cholesterin verankert war. Das Ver-

ankerungsprodukt ist aber in Wasser nur wenig löslich. Der ungelöste Teil der Verbindung wird beim Behandeln mit Äther aber durch Dissoziation wieder zerlegt. Nach Windaus (66) ist dies nicht bei allen Saponinen der Fall, denn er konnte das Digitonincholesterid durch Äther nicht zerlegen.

24. Acetylassamin wirkt nicht mehr hämolytisch. Es wurde in Alkohol gelöst, und diese Lösung mit physiologischer Kochsalzlösung stark verdünnt, so daß eine feine Emulsion entstand. Beim Vermischen mit verdünntem Blut setzte das Gemisch farblos ab; auch das Filtrat zeigte keine Spur von Hämolyse.

25. Die Ungiftigkeit des mit Baryt behandelten und des regenerierten Quillayasaponins hat schon Kobert festgestellt. Wohl die meisten kritisch denkenden Leser haben ihm dies nicht glauben wollen. Aber ich muß für mein auf beide Arten behandeltes Assamin dieselbe Ungiftigkeit behaupten. Kobert hat damals das Wort „Saponin“ im engeren Sinne nur für das ungiftige Präparat gelten lassen wollen und die zwei präformierten, giftigen Körper der Quillayarinde Quillayasäure und Sapotoxin genannt. Für die Schaumgetränke dürften solche entgifteten Saponine von Bedeutung werden können, namentlich da die Entgiftung mühelos ausgeführt werden kann.

A. Versuche mit dem aus der Acetylverbindung regenerierten Assamin und

I. 1 $^0/_0$ igem Kaninchenblut.

10 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 1000	keine Hämolyse,	
„	+ 0,02	„	= 1 : 500	„	„
„	+ 0,05	„	= 1 : 200	„	„

II. 5 $^0/_0$ igem frischem Karpfenblut.

5 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 500	„	„
„	+ 0,02	„	= 1 : 250	„	„

III. 5 $^0/_0$ igem Meerschweinchenblut.

5 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 500	„	„
„	+ 0,02	„	= 1 : 250	„	„

IV. 1 $^0/_0$ igem Katzenblut.

10 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 1000	„	„
„	+ 0,02	„	= 1 : 500	„	„
„	+ 0,1	„	= 1 : 100	„	„

V. 2 $^0/_0$ igen Kaninchenblutkörperchen.

10 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 1000	„	„
„	+ 0,02	„	= 1 : 500	„	„

VI. 1 $^0/_0$ igen Kaninchenblutkörperchen.

10 ccm	+ 0,01	Assamin	= 1 : 1000	„	„
„	+ 0,02	„	= 1 : 500	„	„
5 ccm	+ 0,05	„	= 1 : 100	„	„

Zu allen Versuchen wurden Kontrollflüssigkeiten hergestellt. In keiner der Proben trat binnen 24 Stunden auch nur eine Spur von Hämolyse ein. Damit ist bewiesen, daß das regenerierte Assamin auch in enormen Dosen und bei Abwesenheit von Serum ganz unwirksam ist.

B. Versuche mit dem durch Barythydrat entgifteten Assamin.

Dieses Barytsaponin wurde so gewonnen, daß Assaminlösungen mit heiß gesättigter Barytlösung versetzt und 1, 5 und 10 Stunden im kochenden Wasserbade erhitzt wurden. Nach dem Erkalten wurde aus den Filtraten das Baryt durch Schwefelsäure abgeschieden, und die barytfreien Filtrate zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Angewandt wurde 1⁰/₀ iges und 2⁰/₀ iges Blutkörperchenkochsalzgemisch.

I. 10 ccm + 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung als Kontrolle,
„ + „ (= 10 mg) Barytsaponinlösung I,
„ + „ („) „ II,
„ + „ („) „ III.

II. Genau die gleichen 4 Gläschen, nur nicht mit 2⁰/₀ igem, sondern mit 1⁰/₀ igem Blutkörperchenkochsalzgemisch.

Alle Versuche angestellt früh $11^h 15'$. Bis zum Abend kein Unterschied gegenüber den Kontrollen, am folgenden Morgen auch nicht.

Das mit Barythydrat einige Zeit in der Hitze behandelte Assamin wird also ganz unwirksam.

26. Von animalischen Hämolysinen werden Leukocyten meist gelöst. Das Verhalten gegen Saponin ist noch wenig untersucht. Von den verschiedenen Arten der Leukocyten waren mir die des Eiters am bequemsten zugänglich und wurden daher zur Untersuchung herangezogen. Doch wurden dieselben in 2,5⁰/₀ iger Suspension von Assamin nicht gelöst, ebensowenig wie Darmzellen, die aus dem Darm eines jungen Hundes erhalten wurden. Über die Leukocyten des Krötenblutes habe ich unter Nr. 13 gesprochen.

27. Verhalten von Assamin gegen Leberzellen der Katze.

Vollkommen hämoglobinfreie Leberzellen wurden in 5⁰/₀iger Suspension geprüft.

0,1 Assamin + 10 ccm: Nach kurzer Zeit sind die Zellen beim Schütteln verklebt und lösen sich nach Verlauf von 20 Stunden bis auf einen geringen Rest vollständig auf.

0,05 Assamin + 10 ccm: Verhält sich ähnlich.

0,01 Assamin + 10 ccm: Schwache Auflösung, doch gegen Kontrolle deutlich zu sehen.

28. Verhalten von Assamin gegen völlig blutfrei isolierte Leberzellen des Schweines.

I	aufgestellt $3^h 35'$	10 ccm Zellensuspension + 1 ccm phys. NaCl	
II	aufgestellt $3^h 35'$	10 ccm Zellensuspension + 1 ccm Assamin [10 mg]	$4^h 5'$ Bodensatz kleiner als bei I; $5^h 30'$ wie vorher

III	aufgestellt 3^h 35′	10 ccm Zellensuspension + 2 ccm phys. NaCl	
IV	aufgestellt 3^h 35′	10 ccm Zellensuspension + 2 ccm Assamin [20 mg]	4^h 5′ Bodensatz kleiner als bei II; 5^h 30′ wie vorher
V	aufgestellt 3^h 35′	10 ccm Zellensuspension + 3 ccm phys. NaCl	
VI	aufgestellt 3^h 35′	10 ccm Zellensuspension + 3 ccm Assamin [30 mg]	4^h 5′ Bodensatz kleiner als bei IV; 5^h 30′ wie vorher
VII	aufgestellt 3^h 35′	10 ccm Zellensuspension ohne Zusatz	Bei I, III, V, VII, VIII ist die Bodensatzmenge der Zellen gleich groß
XIII	aufgestellt 5^h 20′	10 ccm Zellensuspension ohne Zusatz	
IX	aufgestellt 5^h 20′	20 ccm Zellensuspension + 1 ccm phys. NaCl	nach 1/2 Stunde zeigt X einen größeren Bodensatz als XI. Am andern Morgen ist dieser Unterschied noch immer merkbar
X	aufgestellt 5^h 20′	20 ccm Zellensuspension + 1 ccm Assamin [10 mg]	
XI	aufgestellt 5^h 20′	5 ccm Zellensuspension + 2 ccm phys. NaCl	nach 1/2 Stunde, auch noch nach 15 Stunden in XII sehr geringer, in XI sehr starker Bodensatz
XII	aufgestellt 5^h 20′	5 ccm Zellensuspension + 2 ccm Assamin [20 mg]	
XIII	aufgestellt 5^h 20′	5 ccm Zellensuspension + 5 ccm phys. NaCl	Die Differenz der Größe des Bodensatzes ist noch stärker als bei XI und XII
XIV	aufgestellt 5^h 20′	5 ccm Zellensuspension + 5 ccm Assamin [50 mg]	

Nun wurden Filtrate angefertigt, und immer die zusammengehörigen Filtrate verglichen. Dabei ergab sich, daß ausnahmslos die saponinhaltigen Filtrate eiweißreicher waren als die saponinfreien. Von Eiweißreaktionen wurden folgende angewandt: 1. Kochen mit verdünnter Essigsäure, 2. Fällen mit Pikrincitronensäure, 3. Fällen mit Salzsäure und Mayers Reagens.

Aus diesen Versuchen ergibt sich mit zwingender Notwendigkeit, daß völlig hämoglobinfreie Leberzellen vom Schwein durch Assamin teilweise aufgelöst werden und im Filtrat in gelöster Form vorhanden sind. Die Löslichkeit ist beträchtlich, da sie noch bei 10 mg Saponin + 20 ccm Zellgemisch deutlich nachweisbar ist. Dieses Zellgemisch enthielt etwa 1/2 ccm Zellen.

Die Filtrate sämtlicher Gläschen wurden außerdem vergleichend biologisch geprüft. Da die Leberzellen reich an Katalase sind, war anzunehmen, daß bei Auflösung derselben reichlich Katalase in Lösung geht. Folglich mußten die Filtrate der Saponingläschen mit Wasserstoffsuperoxyd stärkere Schaumentwicklung geben als die ohne Saponin. In der Tat ergab sich, als zu je 5 ccm 2 ccm H_2O_2 [3%ig] zugesetzt wurde, daß die Saponingläschen viel stärker schäumten als die ohne Saponin. Da nun die Saponine an sich auf Wasserstoffsuperoxyd nicht katalytisch einwirken, kann hier als Erklärung für die Schaumentwicklung nur angenommen werden, daß durch die Auflösung der Leberzellen Katalase in aktiver Form in Lösung gegangen ist. Nimmt man diese Erklärung

als richtig an, so wird durch diesen Versuch ebenfalls bewiesen, daß das Assamin „hepatolytisch", d. h. leberzellenlösend wirkt.

Nachdem die Wasserstoffsuperoxyd-Zersetzung zu Ende gegangen ist, werden die Gläschen nochmals angesehen. Jetzt stellt sich ein neues Ergebnis heraus: In allen Saponingläschen ist ein reichlicher Bodensatz, in den andern ein minimaler. Der Bodensatz besteht aus unlöslich gewordenem Eiweiß. In den Saponingläschen war viel Eiweiß und konnte daher viel ausgefällt werden; in den andern war fast kein gelöstes Eiweiß und konnte daher nichts ausgefällt werden. Millons Reagens zeigte, daß der Niederschlag in den Saponingläschen aus Eiweiß bestand.

Alle Versuche wurden genau in der gleichen Weise wiederholt, und alle Ergebnisse von neuem festgestellt.

29. Einwirkung von Assamin auf völlig blutfreie, weißgelbe Leberzellen nach zweitägiger Härtung in 3,6 %igem Formalin.

Dieselben Leberzellen, welche vor der Härtung noch bei 10 mg Assamin [1 ccm] + 10 ccm Zellensuspension stark gelöst wurden, werden nach der Härtung auch bei 24stündiger Einwirkung von 100 mg Saponin [10 ccm] auf 10 ccm Zellensuspension absolut nicht beeinflußt. Es geht kein Eiweiß in Lösung, und die Zellen verkleben nicht. Der Formaldehyd war vorher durch Filtration des Zellbreies nach Möglichkeit entfernt worden.

Ergebnis: Die durch Formaldehyd gehärteten Zellen der Leber verlieren also durch diese Härtung die Fähigkeit, von Saponin aufgelöst zu werden, völlig. Sie stimmen darin mit den roten Blutzellen überein. Falls das Saponin nur auf das Cholesterin der Zellen einwirkte, wäre dies doch undenkbar. Das vom Saponin Beeinflußte muß eine Cholesterin-Eiweißverbindung sein. Legt man diese Theorie zu Grunde, so werden alle Versuche verständlich.

30. Hämolyse der Sapogenine von Assamin und Gujacsaponin, geprüft mit Hundeblut.

Schon seit vielen Jahren war bekannt, daß das Solanin auch noch nach Abspaltung seiner Zuckerkomponente stark hämolytisch wirkt. Den Sapogeninen hat Kobert früher die hämolytische und toxische Wirkung ganz abgesprochen. Brandl hat diese Ansicht experimentell für das Kornradesapogenin widerlegt. Kobert hatte alle solche Versuchsprotokolle, wo die Sapogenine wirkten bzw. zu wirken schienen, verworfen, weil er glaubte, daß in diesen Fällen die Spaltung nicht vollständig gewesen sei. Diese Auffassung ist aber unrichtig.

Wie das neutrale Gujacsaponin nur schwach wirkt, so auch das Sapogenin, das aus einem Gemisch des sauren und neutralen Guajacsaponins gewonnen worden war.

Angewandt wurden die Sapogenine als 1 %ige neutrale Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

Verd. des Blutes	Menge des Sapogenins	S. d. Assamins löst	S. d. Guajacsaponins löst
1 %	0,01 + 10 ccm = 1 : 1000	in 50 Sek.	in 28 Min.
"	0,005 + " = 1 : 2000	in $1^1/_2$ Min.	in 54 "
"	0,001 + " = 1 : 10000	in $1^1/_4$ Stunden	nicht mehr
"	0,0005 + " = 1 : 20000	in 15 "	" "
2 %	0,01 + " = 1 : 1000	in $1^1/_6$ Min.	in $1^1/_6$ Stunden
"	0,005 + " = 1 : 2000	in $2^1/_4$ "	in 11 "
"	0,001 + " = 1 : 10000	in 12 Stunden	nicht mehr
10 %	0,01 + " = 1 : 1000	in $4^1/_4$ Min.	" "
"	0,005 + " = 1 : 2000	in 32 "	" "
"	0,001 + " = 1 : 10000	nicht mehr	" "

Die Versuche sind deshalb nicht sehr genau, weil die Sapogenine nicht in Lösung wirkten, und andrerseits die Trübung ein scharfes Eintreten der Hämolyse nicht erkennen läßt.

31. Verhalten der Sapogenine des Assamins und der Quillayasäure gegen Kaninchenblut.

Entsprechend der geringeren hämolytischen Kraft der Quillayasäure (1 : 10000) gegenüber Assamin, wirkt auch das Quillayasäuresapogenin schwächer als das Sapogenin des Assamins.

Die Sapogenine wurden angewandt in 0,25 %iger neutraler Lösung.

Verd. des Blutes	Menge des Sapogenins	S. d. Assamins löst	S. d. Quillayasäure löst
1 %	0,01 + 10 ccm = 1 : 1000	in 60 Sek.	in $1^1/_6$ Min.
"	0,002 + " = 1 : 5000	in 27 Min.	in 30 "
"	0,001 + " = 1 : 10000	in $4^1/_4$ Stunden	in $5^1/_4$ Stunden
"	0,0005 + " = 1 : 20000	nicht mehr	nicht mehr
2 %	0,01 + " = 1 : 1000	in $2^1/_4$ Min.	in $3^1/_2$ Min.
"	0,002 + " = 1 : 5000	in $1^3/_4$ Stunden	in $4^3/_4$ Stunden
"	0,001 + " = 1 : 10000	nicht mehr	nicht mehr
10 %	0,01 + " = 1 : 1000	in 1 Stunde	in $2^3/_4$ Stunden
"	0,002 + " = 1 : 5000	nicht mehr	nicht mehr

32. Hämolyse der Assamsäure in neutraler Lösung, geprüft mit Hundeblut und mit Kaninchenblut.

Assamsäure, das zweite Saponin der Samen des Assamtees, wurde ebenfalls auf sein Verhalten gegen rote Blutkörperchen geprüft. Die Grenze der Hämolyse liegt bei 1 : 2000, es wirkt also bedeutend schwächer als das neutrale Assamin.

Verd. des Blutes	Menge der Assamsäure	Hundeblut. löst	Kaninchenblut. löst
1 %	0,01 + 10 ccm = 1 : 1000	in $8^1/_2$ Min.	in 8 Min.
"	0,005 + " = 1 : 2000	in $7^1/_2$ Stunden	in $6^1/_2$ Stunden
"	0,001 + " = 1 : 10000	nicht mehr	nicht mehr
2 %	0,01 + " = 1 : 1000	in 3 Stunden	in $2^1/_4$ Stunden
"	0,005 + " = 1 : 2000	nicht mehr	nicht mehr
10 %	0,01 + " = 1 : 1000	" "	" "

II. Versuche mit Assamin und mit dem Sapogenin des Assamins am lebenden Organismus von Säugetieren und Fröschen.

A. Einspritzungen von Assamin in die Blutbahn.

I.

8. XI. 07. 10h. 0,6 ccm einer 0,5%igen Assaminlösung einem männlichen Kaninchen in die Ohrvene gespritzt. Gewicht ca. 2000 g.

Benehmen wenig anormal. Einige Tage lang etwas weniger Freßlust. Harn normal.

II.

19. XI. 07. 9h 50'. 2ccm einer 1%igen Assaminlösung dem gleichen Tiere in die Ohrvene.

1. Harn. 11h 45. Normal aussehend, trübe, alkalisch, mikroskopisch zahlreiche Salzcylinder; zuckerfrei; Eiweiß in großer Menge vorhanden.

2. Harn. 1h. Normal aussehend, überhaupt wie vorher. Am 2. Tage. 400 ccm Harn, frei von Zucker. Spuren Eiweiß. Der Harn ist fast klar, sehr schwach alkalisch, ohne Salzcylinder, dagegen krystallisiert nach einigem Stehen neutrales Magnesiumphosphat in reichlicher Menge aus. Am 3. Tage enthält der Harn nur noch geringe Spuren Eiweiß.

Am 4. Tage
„ 5. „
„ 6. „ } ist der Harn nach Aussehen und Bestandteilen wieder normal. Auch die Freßlust des Tieres ist wieder normal.

III.

26. XI. 07. 9h 30'. 1,8 ccm einer 2%igen Assaminlösung dem gleichen Tiere ins Blut der Ohrvene gespritzt.

1. Harn. 10h 40'. Normales Aussehen, alkalisch, zuckerfrei, Eiweiß reichlich vorhanden.

2. Harn. 5h 10'. Vollkommen klar, schwach alkalisch, zuckerfrei, reichlich Eiweiß.

3. Harn. 27. XI. morgens. Klar, ohne Salzcylinder, reichliches Sediment von neutralem Magnesiumphosphat, zuckerfrei, Eiweiß vorhanden.

4. Harn. 28. XI. morgens
5. „ 28. XI. mittags
6. „ 29. XI. morgens } Das Aussehen des Harns wird wieder normal; normales Sediment wieder vorhanden. Eiweiß verschwunden.

IV.

29. XI. 07. 10h 15'. 3 ccm einer 2%igen Assaminlösung dem gleichen Tiere ins Blut der Ohrvene.

1. Harn. 10h 35' in einer Menge von ca. 10 ccm, ist durch Blutfarbstoff rot gefärbt, alkalisch, vollkommen klar. Spektroskopisch sind die Linien des Oxyhämoglobins zu sehen, durch Reduktion nach Überschichten mit Öl die Linie des Hämoglobins. Durch Vergleich wurde ungefähr 0,1% Hämoglobin festgestellt. Eiweiß reichlich vorhanden.

2. Harn. 11[h]. ca. 15 ccm, klar, alkalisch; durch Blutfarbstoff deutlich gerötet, doch weniger als im 1. Harn; Eiweiß reichlich vorhanden.

3. Harn. 11[h 30]. ca. 15 ccm klar, alkalisch, zuckerfrei, Eiweiß reichlich vorhanden. Hämoglobin vorhanden, weniger als im 2. Harn. Doch spektroskopisch deutlich nachweisbar.

Kurz nach der Injektion wird das Tier unruhig, wirft sich hin und her, liegt mit ausgestreckten Beinen auf dem Bauche, hält die Augen geschlossen, atmet schnell und wird vollkommen apathisch. Tod gegen 2 Uhr. Gewicht 1900 g. Tödliche Dosis: 0,01 Assamin: 317 g Kaninchen.

Bei der Sektion ergibt sich makroskopisch nichts. Blase leer. Blutserum durch Hämolyse rot gefärbt.

Mikroskopischer Befund:

Leber: Normal.

Niere: Alle Glomeruli intakt. In den Kanälen vereinzelt Eiweißcylinder, aber keine Hämoglobincylinder.

V.

26. XI. 07. 9[h] 30'. 4 ccm einer 2 $^0/_0$igen Assaminlösung einem weiblichen Kaninchen ins Blut der Ohrvene injiziert.

1. Harn. 10[h] 20'. Durch Hämoglobin intensiv gerötet. Spektroskopisch die beiden Oxyhämoglobinstreifen, nach Reduktion der Hämoglobinstreifen sehr schön zu sehen. Nach Vergleichspräparaten ungefähr 1 $^0/_0$ Hämoglobin enthaltend. Zucker nicht vorhanden, dagegen reichlich Eiweiß.

Das Tier vollkommen apathisch, wirft sich unruhig hin und her, Atmung sehr beschleunigt, liegt lang ausgestreckt, Augen geschlossen. stirbt 11[h] 05'. Gewicht 2300 g, tödliche Dosis: 0,01 Assamin : 288 g Kaninchen.

Die Sektion ergibt makroskopisch keine Veränderung. Der der Blase entnommene Harn ist durch Blutfarbstoff gerötet; das Blutserum durch Hämolyse rot gefärbt, in 2 $^0/_0$iger Verdünnung sind spektroskopisch allerdings keine Streifen mehr zu sehen.

VI.

27. XI. 07. 11[h]. 3 ccm einer 2 $^0/_0$igen Assaminlösung einem männlichen Kaninchen ins Blut der Ohrvene gespritzt. Nach Injektion von $^1/_2$ ccm wegen Schreien des Tieres Aussetzen der Einspritzung.

1. Harn. 2[h]. Normal aussehend, schwach alkalisch, wenig Sediment, das aus Magnesiumphosphat und Kalkoxalat besteht, zuckerfrei, wenig Eiweiß.

2. Harn. 5[h 30']. Klar, sehr schwach alkalisch, wenig krystallinisches, aus Magnesiumphosphat bestehendes Sediment, zuckerfrei, Eiweiß sehr wenig vorhanden.

3. Harn. 28. XII. morgens. Klar, alkalisch, wenig Sediment, frei von Zucker und Eiweiß.

4. Harn. 28. XI. mittags }
5. „ 29. XI. morgens } wird wieder normal.

VII.

30. XI. 07. $9^{h\,25'}$. 4 ccm einer $2\,^0/_0$igen Assaminlösung dem gleichen Tiere ins Blut der Hinterschenkelvene injiziert.

1. Harn. $10^{h\,45'}$. ca. 4 ccm klar, alkalisch, ohne Sediment, frei von Hämoglobin und Zucker, Eiweiß vorhanden.

Das Tier fällt mit Oberkörper und Kopf andauernd nach vorne, sucht sich wieder aufzurichten. sinkt jedoch immer wieder nieder, liegt dann, die Beine weit weggestreckt, hastig atmend, auf dem Bauche, Augen geschlossen, stirbt $11^{h\,45'}$. Gewicht 2600 g, tödliche Dosis: 0,01 Assamin : 325 g Kaninchen.

Die Sektion ergibt makroskopisch nichts. Der Harn der Blase enthält Hämoglobin und wenig Eiweiß. Das Blutserum ist durch Hämolyse rot gefärbt.

Die Einspritzungen des Assamins ins Blut ergeben, daß es wesentlich (30mal) ungiftiger ist als das Sapotoxin der Quillaya, von dem schon 1 mg pro Kilogramm sicher letal wirkte. Die Hämoglobinurie ist leicht zu verstehen; sie wird nach verschiedenen Saponinen beobachtet, jedoch keineswegs nach allen.

VIII.

Die Nichtgiftigkeit des aus der Acetylverbindung regenerierten Assamins zeigt sich in folgendem Versuche.

Ein Kaninchen von ca. 1900 bis 2000 g erhält 8 ccm der Lösung des regenerierten Saponins, entsprechend 80 mg Substanz, teils in die rechte, teils in die linke Ohrvene. Es bleibt ganz gesund, frißt und läßt keinen rot gefärbten. sondern dauernd normalen Harn.

B. Einspritzungen von Assamin unter die Haut.

Die meisten Saponinsubstanzen wirken subcutan stark reizend und machen lokale Abscesse, ja Hautnekrose. Dies gilt auch für das Assamin. Ein Teil des Giftes gelangt langsam zur Aufsaugung und macht Albuminurie und bei Katzen Hämatoidinurie, wobei das Hämatoidin in Kryställchen auftritt. Die Allgemeinerscheinungen bestehen in Schwerfälligkeit und Somnolenz. Das Hämatoidin ist natürlich ein Zeichen der Blutzersetzung.

I.

10. I. 08. $10^{h\,15'}$. 5 ccm einer $2\,^0/_0$igen Assaminlösung einem Kaninchen unter die Haut gespritzt.

11. I. 08. Morgens liegt das Tier im Sterben und wird deshalb getötet. Gewicht 1200 g, tödliche Dosis: 0,01 Assamin : 120 g Kaninchen.

Nach der Injektion wird das Kaninchen völlig apathisch, zeitweilig von Krämpfen befallen. Die bis zur Tötung untersuchten Harne ent-

halten keine anormalen Bestandteile. Die Sektion ließ makroskopisch nichts sonderliches feststellen. An der Injektionsstelle keine Eiterung, wohl eine leichte Rötung.

II.

13. I. 08. $10^{h\,30'}$. 10 ccm einer $2^0/_0$ igen Assaminlösung einer Katze subcutan injiziert.

1. Harn. 11^h
2. „ 6^h
3. „ 14. I. morgens

} Eiweiß in reichlicher Menge vorhanden.

Die Katze wird zusehends apathischer, reagiert nicht mehr auf Reize, kann sich nur schlecht auf den Beinen halten, kriecht ins Dunkle, verändert nur langsam uud schwerfällig ihren Platz, fällt am Abend des zweiten Tages um, klagt wenig und stirbt ohne Krämpfe gegen $6^{h\,30}$. Gewicht 2500 g, tödliche Dosis: 0,01 : 125

Die Sektion ergibt makroskopisch nichts. Der Inhalt der Gallenblase ist zäh, goldigrot. Spektroskopisch zeigen sich die Streifen des Oxyhämoglobins; der Blutfarbstoff ist auch mittels Aloin und Guajaconsäure nachweisbar; letztere Reaktion tritt, bedingt durch Gallenfarbstoffe, mit grüner Farbe ein.

Mikroskopischer Befund:

Leber und Herz: Normal.

Niere: Viele Kanäle voll Eiweiß, teils auch mit epithelialen, kernhaltigen Abstoßungen. Blut ergossen in die Kanäle, oft in bedeutenden Mengen; zum Teil sind die Blutkörperchen gelöst.

III.

3. II. 08. $3^{h\,50'}$. 10 ccm einer $2^0/_0$ igen Assaminlösung einer Katze unter die Haut gespritzt.

1. Harn. 4. II. morgens. Schwach alkalisch, normales Aussehen, wenig Eiweiß.

2. Harn. 4. II. 3^h. Neutrale Reaktion, normales Aussehen, sehr viel Eiweiß.

3. Harn. 5. II. morgens. Enthält sehr viel Eiweiß.

Die Katze ist völlig teilnahmlos, verbirgt den Kopf, frißt kaum, säuft am 5. II. wenig; am gleichen Tage Durchfall; in der Nacht 5./6. II. laut und viel klagend. Am Morgen des 6. II. tot. Gewicht 4700 g, tödliche Dosis 0,01 : 235.

Sektion: Im Magen eine Anzahl punktförmiger Blutaustritte, die durch Einwirkung des Magensaftes bereits schwärzlich verfärbt sind. Im unteren Dünndarm, nahe dem Ende, einzelne Blutaustritte in die Schleimhaut, sonst normal. Die Milz ist geschwollen, schwarzblau, entschieden blutreicher als normal. Herz und Lunge normal, ebenso der Inhalt der Galle. Der Blaseninhalt zeigt unter dem Mikroskope neben zahlreichen Spermatozoen eine Menge Fetttröpfchen, in denen braunrote, drusig gruppierte Nädelchen liegen: Hämatoidin.

Mikroskopischer Befund:

Leber: Normal mit reichlicher Fettablagerung.

Milz: Reichlich Hämosiderin.

Lymphdrüse: Blutaustritte. Weiße Blutkörperchen: mit den Resten zerstörter roter Blutkörperchen beladen.

Niere: Glomeruli frei; in vielen Kanälen, sowohl auf Quer-, als auch auf Längsschnitten, Blut und zwar die Blutkörperchen vollkommen zu erkennen; einzelne Cylinder in den Sammelröhren und in diesen Kerne zerstörter Epithelzellen.

IV.

6. II. 08. $12^{h\,45'}$. 8 ccm einer 2%igen Assaminlösung einer Katze unter die Haut gespritzt.

Die bis zu dem am 9. II. 3^h erfolgten Tode untersuchten fünf Harne sind schwach alkalisch, sehen normal aus, enthalten jedoch alle sehr reichlich Eiweiß.

Verhalten des Tieres wie bei III. Gewicht 3200 g, tödliche Dosis 0,01 : 200.

Sektion: Im Magen brauner Inhalt, aber keine größeren Geschwüre, sondern nur zwei Blutaustrittstellen, eine längliche und eine punktförmige. Hämoglobinartige Massen im oberen Dünndarm, dessen Schleimhaut im übrigen unverändert ist. Im Dickdarm nichts Anormales. Herz und Lunge normal. Im sehr geringen Blaseninhalte: Hämatoidin.

Die im Dünndarm befindlichen Massen enthalten, gemäß der Untersuchung mit Benzidin, Aloin und Guajaconsäure, reichlich Hämoglobin.

Der mikroskopische Befund der Niere, Milz und Leber ist der gleiche wie bei Katze III.

V.

18. II. 08. $10^{h\,15'}$. 7 ccm einer 2%igen Assaminlösung einer Katze subcutan injiziert.

1. Harn.	12^h.	Normal; dann zwei Tage lang kein Harn.		
2. Harn.	21. II.	morgens;	neutrale Reaktion,	viel Eiweiß.
3. „	22. II.	„	alkalische „	„ „
4. „	23. II.	„	„ „	„ „
5. „	24. II.	„	„ „	„ „

mikroskopisch zeigt sich, da der Harn stark alkalisch ist, viel Tripelphosphat, dann weiße Blutkörperchen bzw. Kerne, Hämatoidin, Epithelzellen der Niere und vereinzelt körnige Cylinder.

6. Harn. 24. II. mittags. Gleicher Befund wie vorher, auch mikroskopisch.

7. Harn. 25. II. morgens		Gleiches Bild wie Harn 5. Nach dem Filtrieren tritt Reaktion auf Gallenfarbstoff nicht ein, also alles Hämatoidin ungelöst. Indikan vorhanden.
8. „ 25. II. mittags		
9. „ 25. II. abends		

10. Harn. 26. II. morgens. Weniger Eiweiß und weniger Hämatoidin; da Reaktion alkalisch, viel Tripelphosphat; weiße Blutkörperchen bzw. Kerne, Cylinder.

11. Harn. 26. II. abends. Weitere Abnahme des Eiweißes und des Hämatoidins. Von letzterem wurden in je vier Präparaten nur ein Büschel Krystalle gefunden.

12. Harn. 27. II. morgens. Schwach alkalisch, normal braun, mit Essigsäure tritt Grünfärbung ein, enthält viel Indikan, Eiweiß nimmt wieder zu, zeigt mikroskopisch gleiches Bild wie 10. Harn, jedoch sehr wenig Hämatoidin.

13. Harn. 27. II. abends. Gleicher Befund wie beim 12. Harn; Hämatoidin nicht mehr vorhanden.

14. Harn. 28. II. Wie vorher.

15. „ 29. II. morgens. Wie vorher; die Eiweißmenge nimmt zu.

16. „ 29. II. mittags. Wie vorher.

17. „ 2. III. Neutral, braungelbe Farbe, weniger Indikan, viel Eiweiß.

18. Harn. 3. III. Nur noch Spuren Indikan, dagegen sehr viel Eiweiß.

Die Katze liegt während der ersten sieben Tage immer schlafend eingerollt und frißt nicht, am achten Tage steht sie wieder auf, leckt sich und frißt. Die Katze, die sich zu erholen scheint, wird am elften Tage wieder mehr krank und stirbt am 3. III. Sie ist sehr abgemagert. Eine große Stelle in der rechten Seite ist offen (welche Wunde sich das Tier in seinen Schmerzen beigebracht hat), und läßt das darunter liegende faulig-eitrige Gewebe von intensiv fauligem Geruche erkennen. Diese Stelle erstreckt sich äußerlich bis unter den Bauch. Die Augenbindehäute sind durch eitrige Entzündung verändert. Die Sektion wurde unterlassen.

VI.

25. II. 08. 10^h 15 ccm einer 2%igen Assaminlösung einem Hunde unter die Haut gespritzt.

1. Harn. 26. II. morgens. Kein Eiweiß.

2. „ 26. II. abends. Spuren Eiweiß.

3. „ 27. II. morgens. Große Mengen Eiweiß.

4. „ 27. II. mittags. Große Mengen Eiweiß.

Der Hund schläft an den beiden ersten Tagen fortwährend, frißt nicht. Am dritten Tage streckt er sich lang aus, wimmert und klagt beim Anfühlen stark. Stirbt am 27. II. 6^h. Gewicht 6500 g, tödliche Dosis 0,01 : 220 g.

Sektion: Unter der Haut des Bauches und der rechten Seite, an der eingespritzt worden war, finden sich ausgedehnte, seröse Durchtränkungen des Gewebes, wodurch dasselbe stark verdickt ist. Gleichzeitig haben starke Blutaustritte stattgefunden, wodurch das Gewebe intensiv blutig gefärbt ist. Die Blase ist leer. Nach dem Auftupfen der Blasenwand auf einem Objektträger zeigt sich: viel Fett, zahllose körnige Cylinder und weiße Blutkörperchen, kein Hämatoidin. Dicht über dem Mastdarmausgange einige Blutaustritte in die Schleimhaut. Sonst ist Darm und Magen normal. Der rötlich-gelbe Inhalt des Darmes

enthält kein Blut, auch der Inhalt der Galle ist nicht blutig. Die Intima der Aorta sind ikterisch gefärbt.

Mikroskopischer Befund.

Hautgewebe: Regellose, starke Blutergüsse in die Maschen des Gewebes, nur wenige rote Blutkörperchen noch intakt; Hämosiderin vorhanden.

Milz: Viel in Einschmelzung begriffenes Blut, das die Form der Blutkörperchen verloren hat und in Schollen umgewandelt ist, die eben im Begriffe sind, unter Hämosiderinbildung zu zerfallen.

Leber: Die Capillaren sind sehr stark erweitert und strotzend mit Blut gefüllt, in dem auch hier reichlich Hämosiderin und Vorstufen desselben nachweisbar sind.

Niere: Glomeruli frei; in den gewundenen und geraden Kanälen finden sich dagegen reichlich Veränderungen, und zwar Cylinderbildung mit Einschluß zelliger Elemente und Vakuolenbildung in den Zellen der Wandung. In den Schleifenkanälen finden sich hier und da auf große Strecken hin die Lumina durch Blutkörperchen, die teils schon in Hämosiderin umgewandelt sind, geradezu verstopft.

Diese sechs Versuche zeigen, daß das Assamin bei Katze, Hund und Kaninchen auch nach subcutaner Einspritzung den Tod herbeizuführen vermag. Aber das Bild der resorptiven Wirkung wird durch das der lokalen Wirkung sehr getrübt. Diese lokale Wirkung besteht in einer nicht von Bakterien abhängigen Reizung des Unterhautzellgewebes, welche zu Infiltrationen, ja selbst zur Absceßbildung und zur nekrotischen Abstoßung der Haut führen kann. Die dadurch verursachten Schmerzen machen das Tier freßunlustig und beeinträchtigen seinen Bewegungstrieb. Das zur Resorption gekommene Assamin macht beim Durchgang durch die Nieren Albuminurie, Cylinderbildung und Blutzersetzung.

VII.

14. I. 03. 10h. Je 1/4 ccm einer 2%igen Assaminlösung zwei Fröschen unter die Rückenhaut gespritzt.

Irgendwelche Erscheinungen stellen sich nicht ein.

VIII.

10. I. 08. 10h 20′. Je 1 ccm einer 2%igen Assaminlösung zwei Fröschen unter die Rückenhaut gespritzt.

Am selben Tage gegen 3h tot. In dem Bauchraum wenig blutige Flüssigkeit, sonst ergibt die Sektion nichts.

IX.

10. I. 08. 10h 30′. 2 ccm einer 2%igen Assaminlösung einem Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Am gleichen Tage gegen 3h tot. Sektion ergibt wenig blutige Flüssigkeit im Bauchraum, sonst nichts.

X.

13. I. 08. 10h 30′. 1/2 ccm einer 2%igen Assaminlösung einem Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Am Morgen des 14. I. tot.

XI.

Je zwei Frösche erhalten 1 ccm und 2 ccm einer 25%igen Assaminlösung ins Hinterbein unter die Haut gespritzt. Bald tritt partielle Lähmung ein, und das Bein wird nachgeschleppt. Nach Verlauf von 20 Stunden sind alle vier Frösche tot. Bei Entfernung der Haut zeigen sich die Muskeln des betr. Beines mehr oder weniger stark gerötet im Vergleich zu den Muskeln des andern Beines, hervorgerufen durch lokale, stärkere Hämolyse.

XII.

Es wurden zwei Nervenmuskelpräparate vom rechten und linken Hinterbein eines Frosches hergerichtet, welche den ganzen Stamm des Nervus ischiadicus und den Musculus gastrocnemius umfaßten. Das vom rechten Bein wird in phys. Kochsalzlösung und das vom linken Bein in eine 1%ige Lösung von Assamin in phys. Kochsalzlösung eingelegt.

Während Nerv und Muskel im ersteren Falle nach acht Stunden noch gut erregbar waren, verlor der Nerv des zweiten seine Erregbarkeit schon in der ersten halben Stunde und bald darauf auch der Muskel, der sein normales Aussehen und seine Struktur ganz einbüßt.

Ehe Kobert die Hämolyse durch Saponine entdeckte, war die gewöhnliche Spezialreaktion auf Saponine die Parese bzw. völlige Lähmung und Unempfindlichkeit eines Hinterbeines beim Frosch nach Einspritzung einer beträchtlichen Menge des Giftes in dieses Hinterbein. Diese Wirkung hat nun auch das Assamin, aber die zur Hervorrufung nötigen Mengen sind sehr groß. Die Erklärung zu dieser Wirkung gibt Versuch XII, welcher zeigt, daß Nervenstämme in Assaminlösung rasch absterben, und daß auch Muskelbündel in direktem Kontakt mit solchen Lösungen unter Verlust ihrer Erregbarkeit groben anatomischen Veränderungen unterliegen.

XIII.

Das isolierte, am Williamsschen Apparate mittels Ringerscher Lösung gespeiste Froschherz ist für die Prüfung der Stärke der Saponinwirkung vorzüglich brauchbar. Dies zeigte sich auch bei Assamin, das noch bei 1:24000facher Verdünnung den Herzmuskel binnen weniger Minuten aufs schwerste schädigte. Dies stimmt zu den oben mitgeteilten Versuchen.

In folgenden Tabellen bedeuten die Zahlen des zweiten Stabes die Frequenz pro Minute und die des letzten Stabes die Quantität der blutfreien Nährflüssigkeit, welche pro Minute in das Reservoir zurückgepumpt wurde.

Minuten	Zahl der Systol.	ccm der Lösung	
	1. Lösung des Assamins 1 : 12000.		
nach 2	31	4,2	unvergiftete Nährlösung
„ 4	31	4,0	
„ 7	28	3,0	
„ 10	Durchleiten von Assamin 0,5 ccm $1^0/_0$iger Lösung: 60 ccm		
„ 12	29	2,0	
„ 19	Das Herz wogt ohne wesentlichen Pumperfolg		
	2. Lösung des Assamins 1 : 24000.		
nach 2	45	7,5	unvergiftete Nährlösung
„ 6	43	8,4	
„ 8	43	8,2	
„ 9	Durchleiten von Assamin 1 ccm $0,25^0/_0$iger Lösung: 60 ccm		
„ 10	32	6,8	Kontraktion unregelmäßig
„ 15	21	5,5	Herztätigkeit sehr unregelmäßig: Kontraktion sehr wenig ergiebig
„ 20	19	3,8	
„ 25	15	1,0	
„ 30	Das Herz wogt ohne wesentlichen Pumperfolg		

C. Einspritzungen von Assamin-Sapogenin in die Blutbahn.

I.

19. XI. 07. 10^h. $^1/_2$ ccm einer $1^0/_0$igen neutralen Sapogeninaufschwemmung einem weiblichen Kaninchen ins Blut der Ohrvene injiziert.

Irgendwelche Veränderungen im Benehmen des Tieres nicht wahrzunehmen. Urin normal.

II.

4. XII. 07. $10^h 15'$. 2,5 ccm einer $1^0/_0$igen neutralen Assamin-Sapogeninsuspension einem männlichen Kaninchen ins Blut der Ohrvene gespritzt.

Während der Injektion Krämpfe und Lähmung, nach 5 Minuten tot. Gewicht 2200 g.

Die Sektion ergibt makroskopisch nichts. Das Blutserum ist durch Hämolyse schwach rot gefärbt. Der der Blase entnommene Harn ist normal, also eiweißfrei und war wohl schon vor der Injektion in der Blase enthalten.

III.

4. XII. 07. $10^h20'$. 1 ccm einer $1^0/_0$igen Sapogeninsuspension einem kleinen Kaninchen ins Blut der Ohrvene gespritzt.

1. Harn.		3^h.	Frei von Eiweiß.	Benehmen des Tieres normal.
2. „		5^h.	Spuren „	
3. „	5. XII. 07.	$8^h30'$.	„ „	
4. „	5. „	$11^h30'$.	Frei von „	

IV.

5. XII. 07. 12^h. 2 ccm obiger neutraler Suspension dem gleichen Kaninchen ins Blut der Ohrvene gespritzt.

Das Tier fällt nach einiger Zeit unter Lähmungserscheinungen um und ist völlig apathisch. Gang nach Anstoßen äußerst schwankend. Nach vier Stunden scheint es sich zu erholen, sitzt ruhig, Augen geschlossen, frißt jedoch nicht. Nach $4^3/_4$ Stunden fällt es plötzlich um, schlägt heftig mit den Füßen und stirbt 5 Stunden nach der Injektion unter Krämpfen, wobei Kotentleerung erfolgt. Gewicht 1200 g, tödliche Dosis 0,01 : 600.

Sektion: Im Fundus des Magens ungefähr zehn punktförmige Blutaustrittstellen. Der Darm ist ungefähr 1 m hinter dem Magen auf einer Strecke von 15 cm sehr stark gerötet. Mikroskopisch zeigen sich an dieser Stelle die Gefäße strotzend voll Blut, dessen Blutkörperchen noch intakt sind. Durch größere Blutergüsse im Darm geronnenes Blut. Ebenfalls ist der Darmschleim an dieser Stelle rot gefärbt. Die Blase enthält keinen Harn. Das Serum des entnommenen Blutes ist durch Hämolyse rot gefärbt.

Mikroskopischer Befund:

Niere: Ganz vereinzelt Cylinder in den Sammelröhren; die meisten gewundenen Kanäle und Glomeruli sind intakt.

Darm: Blutüberfülle der Zotten, besonders nach der Spitze zu.

V.

4. XII. 07. $11^h15'$. 12 ccm der $1^0/_0$igen Sapogeninaufschwemmung einem Hunde teils in die Blutbahn, größtenteils subcutan injiziert.

1. Harn.		6^h.	Schwach	alkalisch.	Frei von Zucker; enthalten alle reichliche Mengen Eiweiß.
2. „	5. XII. 07	morgens.	„	„	
3. „	5. XII. 07	mittags.	„	„	
4. „	6. XII. 07	morgens.	„	sauer.	

An den folgenden Tagen nimmt das Eiweiß ab und ist am 10. XII. verschwunden.

Die Versuche mit Assamin-Sapogenin sind der Unlöslichkeit der Substanz wegen schwierig. Immerhin zeigen meine Versuche doch, daß Albuminurie, ja der Tod erfolgen kann. Das Sapogenin des Assamins ist also keineswegs ungiftig. Dies stimmt zu der Tatsache, daß auch das Spaltungsprodukt des Solanins und das des Kornradesapotoxins giftig sind.

D. Einspritzungen von Assamin-Sapogenin unter die Haut.

I.

7. XII. 07. $9^h 40'$. Je 1 ccm einer $1^0/_0$igen Assamin-Sapogeninsuspension zwei Fröschen ins linke Hinterbein gespritzt.

9. XII. 07 morgens wird der Harn künstlich entleert. Der normalerweise farblose Harn ist gelb gefärbt und zeigt spektroskopisch Andeutungen der Oxyhämoglobinstreifen; mittels Aloin und Guajaconsäure ist jedoch Blutfarbstoff nicht nachweisbar. Zucker ist nicht vorhanden, Eiweiß in reichlicher Menge.

II.

9. II. 07. 11^h. Die gleichen Frösche erhalten je 2 ccm der $1^0/_0$igen Suspension subcutan injiziert.

1. Frosch sondert durch Druck nur einige Tropfen Harn ab, der viel Eiweiß enthält. Ist gegen 3 Uhr tot, bzw. das Herz liegt in den letzten Zügen. An der Einspritzstelle keine Entzündung. Darm vom Magen bis Kloake tief gerötet, Darmschleim durch Blut rot gefärbt. Gewicht des Frosches 58 g.

2. Frosch.

1. Harn.	$12^h 14'$.	Rot gefärbt.	Enthalten alle große Mengen Eiweiß. Blut sowohl spektroskopisch als auch chemisch (durch Aloin und Guajaconsäure) nachweisbar.
2. „	$3^h 30'$.	Schwach gerötet.	
3. „	$5^h 15'$.	Gelblich gefärbt.	
4. „	10. XII. 07.	10^h.	Eiweiß reichlich vorhanden. Blut spektroskopisch nicht nachweisbar, wohl chemisch durch Aloin und Guajaconsäure.
5. „	11. XII. 07.	10^h.	Gleiches Resultat wie vorher.

Das Tier stirbt am 11. XII. 07. Gewicht 65 g.

Sektion: Blase enthält einige Tropfen Harn, der sehr reich an Eiweiß ist. Magen viel, jedoch normaler Schleim. Darmblutgefäße prall gefüllt, doch keine Blutaustritte. Die Bauchhöhle ist mit einer großen Menge fast farbloser Flüssigkeit angefüllt.

III.

9. XII. 07. $3^h 45'$. 2 ccm neutraler $1^0/_0$iger Sapogeninsuspension einem Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Gegen $5^h 15'$ läßt sich durch Druck kein Harn entleeren. Am nächsten Morgen tot. Gewicht 60 g.

Sektion: Blase leer. Vorderer Darmabschnitt mit einzelnen hochrot gefärbten Zotten.

IV.

10. XII. 07. 10^h. 2 ccm obiger Suspension einem Frosche unter die Rückenhaut gespritzt.

Harn läßt sich nicht erhalten. Am folgenden Morgen tot. Gewicht 63 g.

Die Sektion ergibt nichts Anormales. Blase leer.

Mikroskopischer Befund:

Leber: Normal.

Niere: Gewundene Kanäle durch Eiweiß verstopft, auch in den Glomerulihohlräumen große Mengen Eiweiß. Glomerulischlingen zum Teil komprimiert. Ergußfreie Glomeruli und Kanäle sind selten. Hämoglobin in den Kanälen sicher nachweisbar, für Glomeruli zweifelhaft.

Die Froschversuche zeigen, daß das Sapogenin des Assamins resorbiert wird und den Harn abnorm (Albumen, Hämoglobin) macht. Die Tiere gehen dabei zugrunde. Bei allen Fröschen an der Einstichöffnung keine Entzündung. Darm meist normal, dessen Blutgefäße sind prall gefüllt. Der Tod tritt infolge Lähmung der Nerven und des Herzens ein.

V.

11. XII. 07. $10^h\ 25'$. 5 ccm einer $2^0/_0$igen Sapogeninsuspension einem Meerschweinchen unter die Haut gespritzt.

Der Harn wurde bis zum 16. XII. 07 untersucht; anormale Bestandteile waren nicht vorhanden. Auch das Befinden des Tieres normal.

VI.

3. II. 08. 4^h. 10 ccm einer $2^0/_0$igen Sapogeninsuspension einem Kaninchen unter die Haut gespritzt.

1. Harn. 4. II. 08. Morgens. 2. „ 5. II. 08. 11^h.	Normales Aussehen, frei von Eiweiß. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure fällt Pikrinsäure lange gelbe Nadeln, die bei 310° noch nicht schmelzen. Die Identität dieser Doppelverbindung konnte nicht festgestellt werden; das Pikrat wurde aber auch aus normalem Kaninchenharn erhalten.
3. „ 6. II. 08. 8^h. 4. „ 6. II. 08. 1^h.	Normales Aussehen, geringe Spur Eiweiß; Pikrinsäurefällung geringer.

Die weiterhin untersuchten Harnmengen sind normal, die Spuren Eiweiß verschwunden, auch ruft Pikrinsäure keine Fällung mehr hervor.

VII.

13. II. 08. $10^h\ 15'$. Dem gleichen Kaninchen 15 ccm obiger Suspension unter die Haut gespritzt.

Der während dreier Tage untersuchte Harn ist normal, auch fällt auf Zusatz von Pikrinsäure nichts mehr aus. Das Befinden des Tieres ist ebenfalls normal.

VIII.

26. II. 08. $10^h\ 30'$. Dem gleichen Kaninchen 30 ccm obiger $2^0/_0$iger Suspension unter die Haut gespritzt.

Die während zweier Tage erhaltenen Harne sind frei von pathologischen Bestandteilen. Ein Pikrat ließ sich nicht erhalten.

Das Tier wird, vollkommen gesund, am 28. II. 08 getötet. Alles Sapogenin liegt ungelöst, wurstförmig unter der Haut. Da keine Resorption erfolgt war, verlief Sektion resultatlos.

Ergebnis: Bei Warmblütern bleibt das subcutan eingeführte Sapogenin zum größten Teil unter der Haut liegen. Wohl nur deshalb kommt es nicht recht zur Entwicklung resorptiver Wirkungen.

E. Einspritzungen von Guajac-Sapogenin.

Wie schon weiter oben gesagt, löst das Sapogenin des Guajac-Saponins (bestehend aus einem Gemisch von saurem und neutralem Saponin) rote Blutkörperchen auf; es wirkt jedoch weniger stark als das Sapogenin des Assamins. Diese geringere Giftigkeit zeigte sich auch nach Einspritzungen ins Blut und unter die Haut.

I.

16. XII. 07. 11h 40′. 2 ccm einer 1 %igen neutralen Guajac-Sapogeninsuspension einem Kaninchen ins Blut der Ohrvene injiziert.

Harn bis zur nächsten Injektion normal.

II.

17. XII. 07. 10h 30′. 6 ccm der gleichen Suspension demselben Tier ins Blut der Ohrvene gespritzt.

Harn bis zum 19. XII. 07 untersucht und normal befunden.

III.

17. XII. 07. 3h 40′. 3 ccm obiger 1 %iger Suspension einem kleineren Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Der am 18. XII. 07 durch Druck entleerte Harn ist farblos und frei von Eiweiß. Am Abend des 20. XII. tot. Gewicht 45 g.

Sektion: Ganzer Darm bis zur Kloake dunkelrot. Unter dem Mikroskope zeigt sich, daß sämtliche Falten und Zotten mit Blut prall gefüllt sind.

IV.

17. XII. 07. 3h 40′. 3 ccm der 1 %igen Suspension einem größeren Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Am anderen Morgen tot. Der der Blase entnommene farblose Harn ist frei von Eiweiß. Die Bauchhöhle ist mit einer rötlichen Flüssigkeit erfüllt. Darm normal.

V.

18. XII. 07. 9h 40′. 3 ccm der 1 %igen Suspension einem größeren Frosch unter die Rückenhaut gespritzt.

Wird am 21. XII., noch ganz munter, getötet.

Sektion: Blase leer. Der Darm zeigt nahe dem Magen wenige, aber intensive Blutaustritte unter die Serosa auf einer Strecke von 2 cm. Darmschleimhaut normal.

Mikroskopischer Befund:

Darm: Nicht nur Überfülle der Gefäße mit Blut, sondern auch zahlreiche Austritte des Blutes in die Muskularis.

Niere: Gewundene Kanäle häufig mit Eiweiß angefüllt, teils auch durch Blutergüsse.

Ergebnis: Guajac-Sapogenin intravenös bei Kaninchen eingespritzt wirkt in einer Menge von 60 mg gar nicht. Auch bei Fröschen wirkt es schwächer als Assamin-Sapogenin. Dies stimmt zu den Angaben, welche Friboes über die Guajac-Saponine gemacht hat.

III. Verhalten von Wassertieren und Spulwürmern in Assaminlösungen.

1. Werden Rotaugen in eine Assaminlösung 1 : 20000 eingesetzt, so zeigen sich bald Vergiftungserscheinungen. Nach 2 bis 5 Minuten nimmt der Fisch die Rückenlage ein und kann sich trotz großer Anstrengungen nicht mehr aufrichten. Nach kurzer Zeit wird die Atmung unregelmäßig, Kiemendeckel und Maul werden hastig geöffnet. Für Reize sind die Fische in diesem Stadium ziemlich unempfindlich. Bisweilen richten sie sich nach einiger Zeit nochmals auf, fallen aber bald wieder um und sterben ungefähr nach einer halben Stunde. In verdünnteren Lösungen treten die Erscheinungen langsamer und weniger intensiv auf. Größere Verdünnungen als 1 : 250000 wurden nicht angewandt.

2. Ein 22 cm langer Aal wurde in eine Assaminlösung 1 : 10000 gebracht. Nach 1 Stunde macht er große Anstrengungen, aus dem Wasser emporschnellend, aus dem Gefäße zu entfliehen, die sich nach weiterem Verlauf einer halben Stunde andauernd wiederholen, bis der Aal, $1^3/_4$ Stunden nach Beginn des Versuchs, ermattet zurückfällt. Die Atmung ist unregelmäßig und von hastigen Zügen unterbrochen, aus den Kiemen entweichen fortwährend Luftblasen. Nach $2^1/_2$ Stunden macht er auf Reiz hin nur noch matte Bewegungen, nimmt die Rückenlage ein und stirbt $3^1/_4$ Stunden nach dem Einsetzen. Das Maul ist weit geöffnet und der Körper von einem zähen Schleim in großer Menge bedeckt, der an den Kiemen blutig gefärbt ist.

3. Zwei je 9 cm große Aale werden in eine Assaminlösung 1 : 10000 eingesetzt. Nach 1 Stunde sind die Bewegungen nur noch matt, die Atmung heftig und unregelmäßig. Nach $1^3/_4$ Stunden liegen beide mit weit geöffnetem Maule auf dem Rücken und bewegen sich nur noch auf Reize ein wenig. Nach 2 Stunden tritt unter Absonderung großer Schleimmassen der Tod ein.

4. Eine Anzahl Kaulquappen, ca. 1,8 bis 2 cm lang, werden in verschieden starke Assaminlösungen eingesetzt. Kurz nach dem Einsetzen schlagen sie mit dem Schwanze hin und her, stoßen reichliche Mengen Kot ab und öffnen häufig krampfhaft das Maul. Im späteren Stadium werden die Bewegungen träger, auch bei Berührung, und die Tiere werden beim Umschwenken der Flüssigkeit willenlos mitgeführt.

Meist krümmt sich vor dem Tode die Schwanzspitze, und das Tier steigt an die Oberfläche. Die toten Tiere erscheinen heller gefärbt, bedingt, wie mikroskopisch festgestellt wurde, durch Maceration und Einziehung der Ausläufer der gallertartigen Bindegewebszellenfortsätze. Eine größere Verdünnung als 1 : 300000 erwies sich für Kaulquappen im Verlauf von 5 Tagen als ungiftig bzw. als nicht tödlich.

Assaminlösung	Rotaugen, 12 cm, tot nach	Assaminlösung	Aale, 12 cm tot nach	Kaulquappen, 1,8—2 cm, tot nach
1 : 20000	1/2 Stunden	1 : 1000	1 1/2 Stunden	20—25 Minuten
1 : 40000	3/4 „	1 : 2000	1 3/4 „	32—35 „
1 : 80000	3 1/4 „	1 : 5000	2 „	35 „
1 : 125000	6 „	1 : 10000	2 3/4 „	42 „
1 : 250000	11 „	1 : 20000	3 1/4 „	50 „
		1 : 50000	3 2/3 „	1 3/4 Stunden
		1 : 100000		2 1/4 „
		1 : 150000		3 1/2 „
		1 : 200000		5 1/2 „
		1 : 250000		9 „
		1 : 300000		14 „

5. Verschiedene Arten Schwimmkäfer und der gemeine Rückenschwimmer werden ebenfalls in Assaminlösungen eingesetzt. Nach einiger Zeit versuchen die Tiere aus der Flüssigkeit zu entkommen, teils durch Emporkriechen an der Gefäßwandung, teils durch hastiges Umherschwimmen, wobei sie mit dem Kopfe fortwährend heftig gegen das Gefäß anstoßen. Die Bewegungen werden allmählich träger. Die Tiere bleiben schließlich an der Oberfläche liegen und tauchen auch beim Berühren nicht mehr unter. Bei Eintritt des Todes sinken sie meist zu Boden.

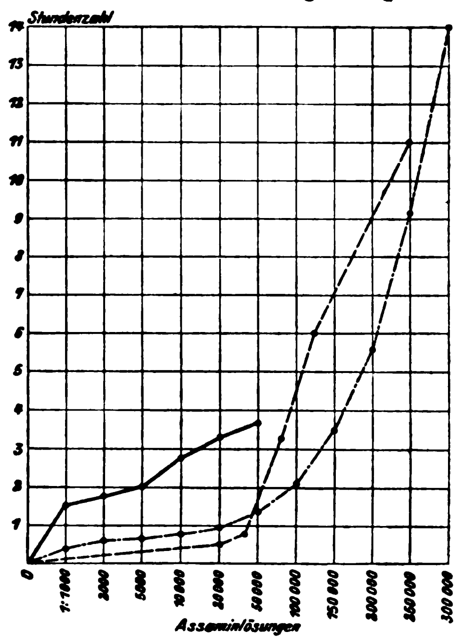


Fig. 1.

Lösungen des Assamins, stärker verdünnt als 1 : 5000 bzw. 1 : 10000, erwiesen sich während fünf

Tagen als ungiftig, beziehungsweise führten sie in dieser Zeit nicht den Tod herbei.

Assaminlösung	Dytiscus marginalis, 3 cm, tot nach	Hydaticus transversalis, 1,3 bis 1,5 cm, tot nach	Gyrinus natator, 0,5 cm, tot nach	Notonecta glauca, 1,5 cm, tot nach
1 : 1000	7 Stunden	$2^1/_2$ Stunden	$1^1/_2$ Stunden	40 Minuten
1 : 2000	9 „	$3^1/_4$ „	$2^1/_4$ „	1 Stunde
1 : 5000	35 „	6 „	$8^1/_2$ „	3 Stunden
1 : 10000	50 „	—	—	24 „

6. **Spulwürmer, Ascariden**, erhalten aus dem Darm eines jungen Hundes, von einer Länge zwischen 5 und 6 cm, sind gegen Assaminlösung sehr unempfindlich. In einer 10%igen Lösung trat der Tod erst nach 8 Stunden ein, in 5%iger, 2%iger und 1%iger Lösung erst nach 36 Stunden, während dünnere Lösungen innerhalb dreier Tage nicht tödlich wirkten. Die Flüssigkeiten hatten während der Versuche eine Temperatur von 37°.

7. Verschiedene **Süßwasseramöben** wurden ebenfalls in Assaminlösung unter dem Mikroskope beobachtet. Assamin erwies sich für dieselben äußerst giftig. Es wurde ein wenig des Giftes auf einen Objektträger gebracht, mit Deckglas bedeckt und wenig Wasser mit den Amöben zufließen lassen. Die Amöben werden rasch, wie die Lösung des Saponins vor sich geht, in ihren Bewegungen gehemmt, bewegen sich drehend oder nur zitternd auf der Stelle und sterben, wobei in konzentrierter Lösung ihr Ektosarck platzt bzw. gelöst wird, und die eingeschlossenen Algen unzerstört zurückbleiben. Schwimmen die Amöben in die sehr konzentrierte Lösung hinein, dann werden sie augenblicklich getötet und lösen sich vollkommen auf. Bei geringerer Konzentration platzt das Ektosarck nur an einer Stelle.

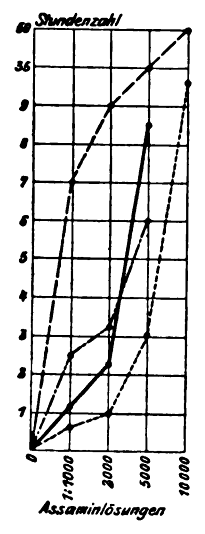


Fig. 2.

1 Rotauge
2 Aal
3 Kaulquappe

I Dytiscus marginalis
II Gyrinus natator
III Hydaticus transversalis
IV Notonecta glauca

Ein vorheriges Größerwerden der Amöben konnte nicht beobachtet werden, ebensowenig ein explosionsartiger Zerfall, im Gegensatz zu den Angaben von **Raymond Foss Bacon** u. **Harry F. Marshall** (73).

Ergebnis: Fische und Kaulquappen sind gegen assaminhaltiges Wasser enorm empfindlich, selbst wenn die Verdünnung 1 : 250000 beträgt. Dies stimmt zu **Koberts** Versuchen mit Quillayasaponin. Wasserkäfer sind weniger empfindlich und Askariden noch weniger, während Amöben platzen.

Das aus dem Acetyl-Assamin regenerierte Saponin erwies sich, wie durch mehrere Versuche festgestellt wurde, für Kaulquappen und Wasserkäfer vollkommen ungiftig.

Literatur.

1. J. C. C. Schrader, Neues allgem. Journ. d. Chemie 8, 548.
2. Buchholz, Taschenbuch für Scheidekünstler S. 33.
3. W. Friboes, Beiträge zur Kenntnis der Guajacopräparate. Stuttgart 1903.
4. E. Laves, Verhdl. d. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 2, 1902.
5. L. Rosenthaler und P. Stadler, Chem. Centralbl. 1, 746, 1908.
6. G. Heyl, Arch. d. Pharmazie 239, 472.
7. O. Tunmann, Pharm. Centralhalle 49, 457, 1908.
8. Overbeck, Arch. d. Pharm. 77, 134.
9. Rochleder und v. Payr, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 45, 7, 1862.
10. Ed. Stütz, Annal. d. Chem. 218, 231.
11. Greene, American Journ. of Pharm. 50, 250 u. 465, 1878.
12. L. Rosenthaler, Phytochem. Untersuchung der Fischfangpflanze Verbascum sinuatum L . . . Diss., Straßburg 1901.
13. R. Kobert, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23, 233 u. 241.
14. Bley, Annal. d. Chem. 4, 283.
15. W. G. Boorsma, Mededeelingen uit s'lands plantentuin 52, 30, 1902.
16. Bolley, Annal. d. Chem. 90, 211.
17. Christophsohn, Vergleichende Untersuchungen über das Saponin . . . Diss., Dorpat 1874.
18. Jos. Atlass, Dorpater Pharmakol. Inst. Arb. 1, 73.
19. P. Hoffmann, Chem. Ber. 36, 2726.
20. O. May, Chemisch-pharmakognost. Untersuchung der Früchte von Sapindus Rarak DC. Diss., Straßburg 1905.
21. R. Kobert, Dorpater Pharmakol. Inst. Arb. 6, 29.
22. A. Flückiger, Arch. d. Pharm. 210, 532.
23. Ramsden, Proc. Roy. Soc. 72, 158, 1904.
24. C. R. Marshall, The Pharmaceutical Journal and Pharmacist 1909. 27. Februar, 257.
25. L. Weil, Beitr. zur Kenntnis der Saponinsubstanzen u. ihrer Verbreitung. Diss., Straßburg 1901.
26. J. Vamvakas, Chem. Centralbl. 2, 167, 1906.
27. R. Kobert, Beitr. zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.
28. Raymond Foss Bacon, The Philippine Journal of Science, 1, 1021, 1906 und
    L. Rosenthaler, Arch. d. Pharmazie 241, 614.
29. J. Brandl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 245.

30. L. Rosenthaler, Arch. d. Pharm. 243, 247.
31. G. Weiß, Arch. d. Pharmazie 244, 226.
32. van der Haar, Pharm. Weekblatt 1908, 40; Ref. d. Pharm. Zeitg. 1908, 900.
33. F. Plzák, Chem. Berichte 36, 1761.
34. K. Sänger, Beitrag zur chemischen Charakteristik der Samen der Kornrade... Diss., München 1904.
35. Rochleder, Journal f. prakt. Chemie 85, 284.
36. J. Brandl, Arch. d. experim. Pathol. u. Pharm. 54, 252.
37. v. Schulz, Dorpater Pharmakol. Inst. Arb. 14, 44.
38. de Luca, Compt. rend. 44, 723.
39. Rochleder, Zeitschr. f. Chem. 1867, 632.
40. Mutschler, Annal. d. Chem. 185, 214.
41. Kiliani, Chem. Ber. 23, 1555; 24, 339, 3951; 32, 339, 2201; 44, 3562 und Arch. d. Pharm. 230, 261; 231, 448; 232, 334.
42. Pharm.-Zeitg. 1908, Nr. 65, 70, 74, 76, 80, 84, 88.
43. Pharm.-Zeitg. 65, 637, 1908.
44. W. Lohmann, Zeitschr. f. öff. Chem. 9, 320, 1903.
45. Juckenack, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 12, 53, 1906.
46. Beythien, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 12, 46, 1906.
47. O. May, Pharm. Centralhalle 47, 223, 1906.
48. Matthes, Ber. über d. Tätigkeit d. Nahrungsmitteluntersuchungsamtes der Universität Jena im Jahre 1907, 20.
49. J. Brandl, Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. 59, 397, 1908.
50. Apotheker-Zeitung 12, 108, 1909.
51. Frehse, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 2, 938, 1899; 3, 365, 1900.
52. Brunner, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 5, 1197, 1902.
53. J. Rühle, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 16, 165, 1908.
54. Schaer, Chem.-Zeitg. 76, 810, 1900.
55. L. u. P. v. Liebermann, Arch. f. Hygiene 62, 299.
56. M. Greshoff, Verslag v. h. onderz. naar de plantenstoffen. in Ned. Indie 1890, 38.
57. W. G. Boorsma, Jets over de saponine-achtige bestanddeelen van de zaden der assamthee. Diss., Utrecht 1891.
58. A. Rosoll, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 89, I. Abt., 143, 1884.
59. Ph. Lafon, Journ. de Pharmacie et de Chimie 1885, 71.
60. A. Combes, Compt. rend. 145, 1431. — Chem. Centralbl. 1, 745, 1908.
61. M. Tsujimoto, Ref. d. Chem. Centralbl. 13, 1108, 1908.
62. P. N. van Eck, Pharm. Weekblatt 1907, 43.
63. C. Neuberg, diese Zeitschr. 11, 402, 1908.
64. Kiliani, Chem. Ber. 24, 339.
65. R. Kobert, Pharm. Zeitg. 1885; Realenc. d. Pharm. 9, 58, 1890 und J. F. Hanausek, Chem.-Zeitg. 71, 1296, 1892; 72, 1317, 1892.
66. A. Windans, Chem. Ber. 42, 238.
67. N. Tufanow, Dorpater Pharmakol. Inst. Arb. 1, 104.

68. L. Rosenthaler, Arch. d. Pharm. 243, 496.
69. B. Tollens und R. v. Creydt, Chem. Ber. 10, 3115.
70. B. Tollens und M. Krüger, Zeitschr. f. anal. Chem. 40, 42, 1901.
71. Lippmann, Chem. d. Zuckerarten 1904, S. 764.
72. Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 13, 195, 1901.
73. Raymond Foss Bacon und Harry F. Marshall, The Philippine Journal of Science 1, 1037, 1906.
74. C. Neuberg und K. Reicher, diese Zeitschr. 4, 291, 1907.
75. R. Höber, diese Zeitschr. 14, 209, 1908.
76. G. Noguchi, diese Zeitschr. 6, 185, 1907.
77. Th. Madsen und G. Noguchi, Chem. Centralbl. 1, 1265, 1905.
78. Hausmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 567, 1905.
79. Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 2, 199.

Das Vorhandensein von Allantoin im normalen Menschenharn und seine Bedeutung für die Beurteilung des menschlichen Harnsäurestoffwechsels.

Von

Wilhelm Wiechowski.

(Aus dem pharmakolog. Institute der deutschen Universität Prag.)

(Eingegangen am. 10. Juni 1909.)

Die Verwendung einer exakten Isolierungsmethode des Allantoins ließ finden[1]: daß alle daraufhin untersuchten Säugetiere (Kaninchen, Hunde, Katzen, Rinder [Salkowski], Affen und nach neueren Untersuchungen [s. w. u.] auch Pferde) dauernd reichliche Mengen Allantoin auch bei purinfreier Kost und im Hunger neben verhältnismäßig wenig Harnsäure ausscheiden, und weiter, daß Hunden und Kaninchen subcutan zugeführte Harnsäure zum größten Teil als Allantoin und nur zum geringsten Teil als Harnsäure im Harn wiedergefunden wird. Bei Verwendung der gleichen Methodik konnte im Menschenharn dagegen Allantoin mit Sicherheit bisher nicht nachgewiesen werden, wiewohl unter die Haut gespritztes Allantoin unverändert im Harn erschien, sonach das Allantoin wie für die anderen Säuger so auch für den Menschen im wesentlichen unangreifbar ist.[2]) Dagegen ist der $\overline{U}$-Gehalt des normalen Menschenharnes bei purinfreier Kost zum Unterschiede von anderen Säugetieren erheblich. Auch der parenteralen Harnsäurezufuhr gegenüber

---

[1]) W. Wiechowski, Die Bedeutg. d. All. im Harnsäurestoffwechsel. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 109, 1907.

[2]) W. Wiechowski, Über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im menschl. Organismus. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. 60, 185, 1909.

zeigte der Mensch ein von dem der Säugetiere abweichendes Verhalten, indem der größere Teil, manchmal die ganze Menge der verabreichten Harnsäure im Harne der nächsten Tage unverändert wiedergefunden wurde.[1])

Daß mithin quantitative Unterschiede in der Zersetzlichkeit der Harnsäure durch Säugetier und Mensch bestehen, ist zweifellos, es erhebt sich aber die Frage, ob das gefundene gegensätzliche Verhalten nur auf besonders weitgehenden quantitativen Unterschieden des Zersetzungsvorganges beruht oder ob der Harnsäurestoffwechsel des Menschen außerdem von dem der anderen Säuger wesensverschieden ist. Die Resultate der Ū-Injektionsversuche beim Menschen im Zusammenhange mit denjenigen meiner Untersuchungen über Harnsäurezersetzung durch überlebende menschliche Organe[2]) führten mich zu dem Schlusse, daß eine praktisch in Betracht kommende „Urikolyse"[3]) im intermediären Stoffwechsel des Menschen (jenseits der Darmwand) nicht stattfindet. Ich mußte mich daher für die erste Alternative entscheiden. — Gleichwohl widerstreiten diesem Schlusse Ergebnisse anderer Autoren bei Versuchen mit überlebenden menschlichen Organen, insbesondere aber auch das in einigen der wenigen angestellten Versuche beobachtete Verschwinden eines Teiles der den Versuchspersonen unter die Haut gebrachten Harnsäure im Organismus. Kann das letztere Verhalten auch auf analoge Vorgänge zurückgeführt werden (Retention, „Stauung"), wie sie das Verschwinden eines Teiles der im Organismus gleichfalls unangreifbaren Oxalsäure verursachen, so blieb doch immer die Möglichkeit offen, daß der verschwundene Ū-Anteil im Menschen in anderer Weise zerfalle als im Säugetier sonst; d. h. nicht zu oder über Allantoin abgebaut werde, wie

---

[1]) Ebenda 203.

[2]) Ebenda 196 ff.

[3]) Der Ausdruck urikolytisches Ferment und Urikolyse stammt von Schittenhelm (Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 161) aus einer Zeit, da das Produkt der tierischen Harnsäurezersetzung (insbesondere auch im überlebenden Organe) nicht sichergestellt war. Heute, da wir wissen, daß es sich allemal im lebenden und überlebenden Organe um eine Oxydation zu Allantoin handelt, ist es eine Forderung der Einheitlichkeit der Nomenklatur Ū-Oxydation bzw. Ū-Oxydase wie Xanthinoxydase oder Urikase (der Ausdruck ist jüngst von französischen Autoren gebraucht worden) wie Nuclease oder Aldehydase zu sagen.

es gegenwärtig namentlich Schittenhelm[1]) und seine Mitarbeiter direkt aussprechen, indem sie einen Abbau zu $\overset{+}{U}$ und NH_3 annehmen, und daß demnach der $\bar{U}$-Stoffwechsel des Menschen nicht nur quantitativ, sondern wesentlich von dem der anderen Säugetierarten unterschieden sei. — Die Möglichkeit war gegeben, wenn auch die Wahrscheinlichkeit in Anbetracht des identischen Verhaltens aller untersuchten Säugetiere bis zum Affen hinauf nicht eben für einen wesensverschiedenen Zersetzungstypus beim Menschen sprechen mochte.

Die Entscheidung zwischen beiden Möglichkeiten war nur von der restlosen Beantwortung der Frage zu erwarten: enthält der normale Menschenharn Allantoin oder ist er frei davon? Ich habe diese Frage durch meine letzte Untersuchung über den Gegenstand[2]) nur dahin beantworten können, daß, wenn überhaupt, jedenfalls nur sehr wenig Allantoin im Menschenharn ausgeschieden wird — die Entscheidung aber, ob es wirklich darin vorhanden ist, mußte ich weiteren Versuchen vorbehalten, die ich nun im folgenden mitteile. — Die Frage scheint mir nicht nur spezialistisches, sondern vielmehr allgemeines Interesse zu beanspruchen, ja für manche gichttherapeutisch wichtigen Forschungen geradezu richtunggebende Bedeutung zu besitzen, denn 1. würde der Nachweis einer von dem sonst allgemein gültigen Säugetier-Zersetzungstypus abweichenden, also für den Menschen spezifischen „Urikolyse“ (hier ist der nichts präjudizierende Ausdruck am Platze) eine sehr bemerkenswerte Ausnahme in dem für alle Säuger im wesentlichen identischen Stoffwechsel bedeuten; andererseits würde 2. der Nachweis geringer Allantoinmengen im Menschenharn, unter Bedachtnahme auf die bereits bewiesene Unangreifbarkeit des Allantoins im Menschen mit größter Wahrscheinlichkeit beweisen, daß eben nur eine diesen kleinen Mengen entsprechende $\bar{U}$-Quantität im Menschen oxydiert wird und den für die Gichtforschung wichtigen, von mir bereits gezogenen Schluß,[3]) von der praktisch bedeutungslosen $\bar{U}$-Zerstörungsfähigkeit des menschlichen Körpers erheb-

[1]) Zahlreiche Mitteilungen zur Stoffwechselpathologie der Gicht, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 1907.

[2]) W. Wiechowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 186 ff., 1909.

[3]) Ebenda 205 f.

lich stützen. Denn kaum könnte angenommen werden, daß die $\bar{U}$ im Menschen nach zwei völlig voneinander verschiedenen Typen zerstört wird, dem der gewöhnlichen mäßigen Oxydation (die zu Allantoin führt) und noch einem anderen, der zum Allantoin gar keine Beziehungen haben dürfte.

Die Literatur über das Vorkommen von Allantoin im Menschenharn ist geringfügig und entscheidet unsere Frage in keiner Weise, da niemals aus Menschenharn Allantoin rein dargestellt und analysiert worden ist und andererseits die angewandten indirekten Bestimmungsmethoden zu mangelhaft waren, um im gegenteiligen Sinne sicher zu entscheiden. Wie immer in naturwissenschaftlichen Fragen steht und fällt unsere Erkenntnis mit der Sicherheit unserer Methoden. Ich habe es nicht für nötig gehalten, bei Besprechung meiner Methode der Allantoinisolierung[1]) aus Harn die früheren quantitativen Bestimmungsmethoden kritisch zu beleuchten und verzichte auch an dieser Stelle darauf. Nur einige wenige Daten sollen erweisen, daß mit den bisher bekannten Methoden nicht weiter zu kommen war. Poduschka[2]) fällte den Harn mit Bleiessig, entbleite mit Sulfat, fällte weiter bei saurer Reaktion mit Silbernitrat und das Filtrat schließlich mit sehr verdünntem Ammoniak. Der N-Gehalt der mit Sulfat NH_3-frei gewaschenen Fällung wurde auf Allantoin umgerechnet. O. Loewi[3]) fällte den Harn mit Mercuronitrat und das mit H_2S entquecksilberte Filtrat mit Silbernitrat und Magnesiumoxyd. Der N-Gehalt dieser Fällung wurde auf Allantoin umgerechnet. — Dieses im wesentlichen gleiche Vorgehen wurde später auch von Dakin[4]) beanstandet.[5]) Man überzeugt sich leicht davon, daß diese zur Allantoinfällung verwendeten Filtrate noch reichlich Stoffe enthalten, die mit Phosphorwolframsäure fällbar sind, bei deren Gegenwart aber eine alkalische Silberfällung nicht ohne weiteres Allantoin anzeigen kann. Müssen diese Methoden derart nicht lediglich Allantoin niederschlagen, so sind sie andererseits nicht unter allen Um-

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 121, 1907.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 59, 1900.

[3]) Ebenda 44, 1, 1901.

[4]) Journ. of Biolog. Chem. 3, 51, 1907.

[5]) Vgl. hierzu auch die Fußnote S. 121 in Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 1907.

ständen quantitativ, denn ich konnte feststellen, daß die Fällbarkeit des Allantoins durch alkalische Silberlösung durch die Gegenwart verschiedener Salze (z. B. Acetate) sehr gehemmt werden kann. Die Resultate der Silbermethoden sind denn auch nichts weniger als befriedigend gewesen. Poduschka stellte l. c. eine auf Allantoin zu beziehende Normalausscheidung in 100 Harn = 7,3 $^{n}/_{10}$-NaOH, fest, was ungefähr 0,027 Allantoin entsprechen würde. Doch gelang es nicht, aus der Silberfällung Allantoin darzustellen. O. Loewi fand mit seiner Silbermethode dagegen den Menschenharn allantoinfrei. Dakin fand Normalwerte, die er aber für Allantoin nicht gelten lassen konnte. Pfeiffer[1]) fand im eigenen Harne mit der Loewischen Methode, Werte, die auf Allantoin berechnet 1 bis 2 g pro die ergaben (!). Ganz neuerdings teilte Schittenhelm[2]) in einer Diskussionsbemerkung mit, daß er selbst aus großen Mengen menschlichen Harnes kein Allantoin isolieren konnte (auch hier scheint mit einer Silbermethode gearbeitet worden zu sein). Bezüglich der älteren Literaturangaben von Pouchet und Gusserow verweise ich auf die zitierte Arbeit über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im menschlichen Organismus.[3])

Die Methode, die ich für die Allantoinbestimmung im Tierharne ausgearbeitet habe[4]) (Fällung des durch Phosphorwolframsäure, Bleiessig und Silberacetat gereinigten Harnes mit 0,5°/₀ Quecksilberacetatlösung bei Gegenwart von viel Natriumacetat, Zersetzen der Fällung und Wägung des auskrystallisierten Allantoins), ergab, wie bereits mitgeteilt, im Menschenharn kein Resultat, wiewohl zugesetztes und subcutan injiziertes Allantoin zur Gänze wiedergefunden wurde.[5]) Da es sich also im normalen Menschenharne nur um sehr geringe Allantoinmengen handeln konnte, habe ich die Methode derart modifiziert, daß ich die Allantoinfällung nicht in einem aliquoten Teile, sondern in der ganzen zur Verfügung stehenden Menge vornehmen konnte. Das wesentliche der Modifikation bestand darin, daß

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 324, 1907.

[2]) Bericht üb. d. Kongreß f. inn. Med. 1909, Berl. klin. Wochenschr. 1909, 1000.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 186, 1909.

[4]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathologie 11, 121, 1907.

[5]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 187 ff., 1909.

nach vorhergehender Behandlung des Harnes, welche basische Stoffe, Salz- und Phosphorsäure entfernte, eine partielle Fällung mit Mercurinitrat vorgenommen wurde. Dieses schlägt, wie Versuche gezeigt haben, alles Allantoin bzw. alle unter den gleichen Bedingungen wie dieses mit Hg-Acetat fällbaren Substanzen nieder, die späteren Mercurinitratfraktionen enthalten nichts durch 0,5 % Hg-Acetat Fällbares. Nach der Zersetzung dieser partiellen Fällung mußte somit das vorhandene Allantoin in kleinem Volumen angereichert sein. Das Filtrat der Zersetzung wurde dann weiter in derselben Weise behandelt, wie es für Tierharn angegeben worden ist. Überdies wurde nach der Zersetzung des Hg-Acetatniederschlages noch eine zweite Reinigung mit Phosphorwolframsäure und mit einer schwefelsauren Lösung von Hg-Sulfat (welche Allantoin nicht fällt) angeschlossen. Die auf diese Weise aus normalem Menschenharn erhaltenen Produkte krystallisierten zwar, ihre Geringfügigkeit gestattete aber keine Identifizierung. Ich habe daher die Versuche in größerem Maßstabe fortgesetzt, d. h. große Harnquantitäten in der angegebenen Weise verarbeitet. Verwendet wurden stets 8 bis 10 l ganz frischen normalen Harnes. Um die Möglichkeit einer passiven Entstehung von Allantoin aus den Harnpurinen während des Sammelns zu vermeiden, war ich gezwungen, Mischharn zu verwenden, der sofort nach dem 1 bis 2^h währenden Einsammeln mit Bleiessig oder Mercuronitrat von Purinen, insbesondere von Harnsäure befreit wurde. Jedesmal gelangte ich bei Verarbeitung derartiger Harnquantitäten in der weiter unten im einzelnen beschriebenen Weise in den Besitz einiger Zentigramme rein-weißer Krystalle, welche ohne Rückstand verbrannten und nach Reaktionen und Löslichkeit sich wie Allantoin verhielten. Der jedesmal bestimmte Schmelzpunkt lag unter Zersetzung bei 230 bis 232° und änderte sich nach dem Mischen mit reinem Allantoin Merck nicht. Die N-Analyse nach Dumas von ca. 0,08 des Produktes ergab einen Gehalt von 35,50 %. Für Allantoin ($C_4H_6N_4O_3$) berechnet sich ein Gehalt von 35,44 %.

Damit ist zum ersten Male das Vorhandensein von Allantoin im normalen Urin des Menschen bewiesen.

Durch Verfeinerung der Methode in einigen scheinbar unwesentlichen Details kam ich aber schließlich auch bei in Arbeit-

nahme geringerer Harnquantitäten zum Ziele. Ich habe das Allantoin in keinem der untersuchten Menschenharne vermißt. Stets gelang es mir, bei quantitativer Verarbeitung des größten Teiles einer Tagesportion das Allantoin als solches zu isolieren, zur Wägung zu bringen und durch Schmelzpunktbestimmung bzw. Ermittlung des Mischungsschmelzpunktes sicherzustellen. So bin ich auch in der Lage, eine kleine Reihe von Bestimmungen mitzuteilen, welche den Umfang der täglichen Allantoinausscheidung des Menschen bei gemischter Kost beleuchten (Tabelle I). Die Ausscheidungsgröße schwankt, wie ersichtlich, um ca. 10 mg pro die.

Tabelle I.

Versuchsperson	Allantoin im 24^h-Harn (berechnet aus Stab 3)	Tagesmenge an Harn	Zur Wägung gebrachtes reines Allantoin
Dr. E. H.	0,0094	1200	0,0024
J. J.	0,01496	1230	0,0127
Eine Schwangere	0,0074	1240	0,0042
Ein Alkaptonuriker F. J.[1])	0,0093	2070	0,0038

Anschließend an diese Tabelle seien noch die entsprechenden Zahlen eines Pferdeharnes mitgeteilt, da über dessen Allantoingehalt noch nichts bekannt ist:

Pferd II[2])	1,36	8000	0,0112 F. P. 232°

Aus dem Mitgeteilten ergibt sich, daß der Mensch, was sein Verhalten zur intermediären Harnsäure anlangt, durchaus keine Ausnahme unter den untersuchten Säugetieren bildet. Wie die übrigen Säuger oxydiert auch der Mensch intermediär vorhandene Harnsäure zu Allantoin und scheidet dieses aus. Da dieses, wie früher gezeigt, auch für den Menschen ein Endprodukt ist, d. h. nicht weiter angegriffen

[1]) Dieser neue Fall von Alkaptonurie wurde in der klinischen Ambulanz des Herrn Hofrates Pribram von Dr. O. Adler aufgefunden und ist dort gegenwärtig Gegenstand eingehenden Studiums.

[2]) Der Harn dieses Tieres konnte quantitativ gesammelt werden, da es die Gewohnheit hat, nur einmal des Tages am Abend nach der Fütterung zu harnen.

wird, so ist auch für den Menschen die Größe der Allantoinausscheidung ein Maß für seine $\bar{U}$-Oxydation, denn die Annahme, daß der Mensch Harnsäure noch in anderer Weise anzugreifen vermöchte, erscheint in hohem Grade unwahrscheinlich und entbehrt jeglicher analytischen Grundlage. Der Umfang dieser Zersetzung aber ist weit geringer als bei den übrigen bisher untersuchten Säugetieren. Parallele Bestimmungen von Allantoin und Harnsäure im Harne zeigen, daß das Vermögen, $\bar{U}$ zu zersetzen, nicht in gleichem Maße allen Säugetierarten zukommt, sondern daß z. B. für Pferd und Mensch auffallende quantitative Unterschiede den anderen gegenüber bestehen.

In der folgenden Tabelle II ist die relative Oxydationsfähigkeit der Harnsäure in der Weise ermittelt, daß das Allantoin als Harnsäure (mit dem Faktor $\frac{168}{158} = 1{,}07$ multipliziert) in Rechnung gesetzt und in Prozenten der Summe $\bar{U}$ + Allantoin als Harnsäure ausgedrückt ist.

Tabelle II.

Spezies	Allantoin = $\bar{U}$		$\bar{U}$	Gesamt-$\bar{U}$ (Allantoin + $\bar{U}$)	Zersetzte $\bar{U}$ in Prozenten d. G. $\bar{U}$.
Mensch 1 (Tagesmenge) .	0,0074	0,0079	0,5121	0,5200	1,5%
Mensch 2 (Tagesmenge) Alkaptonurie	0,0093	0,0099	0,6348	0,6447	1,55%
Mensch 3 (J. J.) Tagesmenge	0,01496	0,0160	0,5622	0,5782	2,77%
Pferd I (50 ccm)	0,044	0,04708	0,0122	0,05928	79,42%
Pferd II (100 ccm) . . .	0,017	0,01819	0,0180	0,03619	50,1%
Hund B[1]) (Tagesmenge) .	0,28	0,2996	0,0200	0,3196	93,73%
Kaninchen IV[1]) (Tagesmenge)	0,14	0,1498	0,0090	0,1507	99,40%
Katze[1]) (60 ccm)	0,09	0,0963	0,0030	0,0966	99,48%
Affe[1]) (100 ccm)	0,10	0,107	∅		

Danach kommt dem Menschen das geringste Harnsäurezersetzungsvermögen unter den untersuchten Säugetieren zu, er zersetzt nur ungefähr 2% der in seinem Stoffwechsel vor-

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 112, 1907.

handenen Ū. Nach den voranstehenden wenigen Daten scheint das Pferd in dieser Beziehung dem Menschen am nächsten zu stehen, doch auch sein Oxydationsvermögen für Ū ist noch immer 25- bis 40mal höher gefunden worden. — Das der übrigen untersuchten Spezies ist praktisch quantitativ, nähert sich sehr 100%, während das des Menschen in der Tat so bedeutungslos ist, daß es vorläufig den Anschein hat, als könnte man es praktisch völlig vernachlässigen.

Diese zahlenmäßige Feststellung gestattet mit mehr Sicherheit, als ich es vor kurzem getan habe, an die Frage heranzutreten, ob eine Störung der Harnsäureoxydation für die Pathogenese der menschlichen Gicht herangezogen werden kann. — Ich glaube auch nach dem Ergebnis der mitgeteilten Versuche diese Frage mit nein beantworten zu müssen. Denn es muß gleichgültig erscheinen, ob ein Mensch beispielsweise 0,5 Ū und 0,01 Allantoin oder 0,51 Harnsäure und kein Allantoin bildet, denn er verträgt bei purinreicher Kost ohne weiteres eine Steigerung seiner zirkulierenden Harnsäure selbst um den gleichen Betrag, ohne zu erkranken. — Was die pharmakotherapeutische Seite der Frage aber anlangt, möchte ich mich heute, da ich mich überzeugt habe, daß die Ū-Oxydation zu Allantoin nichts dem Menschen Wesensfremdes ist, nicht mehr so dezidiert aussprechen. Vielmehr scheint mir als Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen die Frage durchaus des Studiums wert: Kann man durch irgendwelche, namentlich pharmakologische Maßnahmen das an sich niedrige Ū-Oxydationsvermögen des Menschen heben? Solche Eingriffe dann in der Gichttherapie zu versuchen, wäre durchaus sachgemäß und naturwissenschaftlich begründet. — Jedenfalls aber glaube ich durch das Mitgeteilte die Gewinnung der notwendigen physiologischen[1]) Grundlagen so weit beendet zu haben, um an die pharmakologische Bearbeitung des Ū-Problems herantreten zu können. In zweierlei Richtung erscheint eine solche Behandlung aussichtsreich: Gelingt es, durch planmäßige Vergiftung unsere Laboratoriumstiere quoad Oxydationsumfang der Ū dem Menschen näher zu bringen? (hier kämen insbesondere die Alko-

---

[1]) Die allfälligen Besonderheiten der Allantoinausscheidung des Menschen bei verschiedenen Krankheiten, insbesondere bei der Gicht zu ermitteln, wird Sache der Klinik sein.

hol- und Bleiintoxikation, vielleicht auch die HCN und anderes in Betracht). Ist es andererseits möglich, durch irgendwelche Pharmaka die $\bar{U}$-Oxydation des normalen Menschen zu steigern? (hier kämen wohl Versuche mit den möglichst isolierten Urikasen tierischer Organe in Betracht).

Das Ergebnis der hiermit zu einem gewissen Abschluß gelangten Studien über den Harnsäurestoffwechsel der Säugetiere läßt sich im Zusammenhange mit dem von anderen Seiten (Schittenhelm usw.) Ermittelten dahin resumieren, daß die N-haltigen Produkte des intermediären Nucleinstoffwechsels quantitativ[1]) als Basen, Harnsäure und Allantoin ausgeschieden werden. — Der Umfang jedes einzelnen dieser Oxydationsprozesse, welche zu Basen, von diesen zu $\bar{U}$, und von dieser zu Allantoin führen, ist eine Funktion der Arteigenheit sowohl als der Individualität und ist möglicherweise durch Krankheit und Vergiftung abänderbar.

Abgesehen von den letzteren muß daher bei purinfreier Ernährung die Summe Basen + Harnsäure + Allantoin ein Maß für die chemische bzw. „vitale" Individualität des einzelnen sein. — Da in praxi die geringe Basenausscheidung bei allen und außerdem die geringe Allantoinausscheidung beim Menschen, die geringe $\bar{U}$-Ausscheidung bei Kaninchen, Katzen und Hunden vorläufig unberücksichtigt bleiben kann, so kann dieses Maß beim normalen Menschen durch die 24^h endogene Harnsäureausscheidung, bei Hunden, Katzen und Kaninchen durch die 24^h endogene Allantoinausscheidung als gegeben angesehen werden. — In der Tat sehen wir, worauf ich bereits hingewiesen habe, daß nicht nur die endogene $\bar{U}$-Ausscheidung des Menschen, sondern auch die endogene Allantoinausscheidung von Hunden und Kaninchen für das Individuum eine mit großer Zähigkeit festgehaltene Konstanz pro 24^h aufweist.[2]) In dieser Beziehung ist ein Vergleich der in 24^h ausgeschiedenen endogenen Allantoin-

[1]) Hierbei ist die Möglichkeit einer Ausscheidung von Purinen auf die Darmschleimhaut und sekundäre Zersetzung im Darm außer acht gelassen. Ein solches Schicksal erscheint nach zu anderen Zwecken unternommenen Versuchen von Schittenhelm (Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 766, 1907) in der Norm unwahrscheinlich.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 113, 1907.

Harnsäuremengen als Harnsäure berechnet bei den einzelnen Spezies interessant.

Tabelle III.

	Ges.-Ū	Körpergewicht
Mensch (Verfasser; purinfreie Kost), Allantoin mit 0,01 angenommen	0,40	60 kg
Hund B., Hunger	0,32	5 „
Kaninchen IV., Hunger	0,15	1,6 „
Pferd II[1])	2,89	600 „

Auffällig ist die bei Hund, Kaninchen und Mensch verhältnismäßig geringe Differenz bei den so enorm auseinander liegenden Körpergewichtszahlen. Daß das Körpergewicht selbst bei Angehörigen derselben Art der Größe der Allantoinausscheidung nicht proportional ist, ist bereits hervorgehoben worden.[2]) Um so weniger scheint, wie die Tabelle III ergibt, das Körpergewicht bei verschiedenen Arten eine brauchbare Unterlage für einen Vergleich zu bieten, worauf auch viele toxikologische und andere Erfahrungen hinweisen.

Methodik.

Im wesentlichen ist die verwendete Methode zur Abscheidung des Allantoins aus Menschenharn identisch mit dem bereits mitgeteilten, für den Tierharn ausgearbeiteten Verfahren:[3]) Das Allantoin wird als Hg-Verbindung durch 0,5% Quecksilberacetat bei Anwesenheit von viel Natriumacetat niedergeschlagen, nachdem der Harn nacheinander mit Phosphorwolframsäure, Bleiessig und Silberacetat völlig erschöpft und gleichzeitig auf eine Harnstoffkonzentration von höchstens 1% verdünnt ist. Unter diesen Bedingungen wird aus Tierharn neben minimalen Mengen gefärbter, mit Hg-Sulfat in schwefelsaurer Lösung (welches Allantoin nicht fällt) fällbarer Substanzen nur Allantoin niedergeschlagen, welches nach dem Zersetzen der Hg-Verbindung durch H_2S und entsprechendem Einengen sofort rein krystallisiert. Die Grundlagen dieses Verfahrens sind folgende: 0,5% Hg-Acetat fällt bei durch Na-Acetat hervorgerufener alkalischer Reaktion Allantoin quantitativ; 0,5% Hg-Acetat fällt Harn-

[1]) Über das Ausmaß der Purinaufnahme des stark arbeitenden Tieres, welches neben Hafer hauptsächlich mit Heu ernährt wurde, kann nichts ausgesagt werden, sie dürfte bei der erwähnten Kostordnung unerheblich sein.

[2]) l. c. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 1907.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 121 ff., 1907.

stoff auch bei Gegenwart von Nitraten nicht; die Allantoinfällung wird dagegen durch viel Harnstoff gehemmt bis aufgehoben, in 1 $^0/_0$ Harnstofflösung ist sie noch vollständig. Wie Harnstoff in starker Lösung, hemmen auch Ammonsalze und Chloride. Andererseits werden, abgesehen von Phosphorsäure, basische Stoffe (manche Purine) und jene erwähnten mit Hg-Sulfat reagierenden Substanzen, außer dem Allantoin durch das Reagens gefällt. Auch Ammonsalze reagieren mit demselben unter Niederschlagsbildung, während sie gleichzeitig die Allantoinfällung beeinträchtigen. Diese gleichfalls durch das Reagens fällbaren und die die Reaktion hemmenden Stoffe müssen daher vor der Allantoinfällung entfernt werden, was im Tierharne am besten in der angegebenen Weise geschieht. Durch die drei aufeinander folgenden Fällungen ist dann auch die entsprechende Harnstoffverdünnung erreicht. Auf die Abwesenheit hemmender Stoffe ist stets dadurch besonders zu prüfen, daß man das Filtrat jeder Allantoinfällung mit einer frisch bereiteten, verdünnten Allantoinlösung versetzt; hierbei soll als Beweis dafür, daß alles Allantoin gefällt ist und keine die Reaktion störenden Stoffe mehr zugegen sind, ein deutlicher Niederschlag entstehen.

Im Menschenharn war nach dieser Methode direkt kein Allantoin auffindbar. Die in ihm tatsächlich vorhandenen Mengen sind so gering, daß sie durch die bei der Verarbeitung erfolgende und wegen des reichlich vorhandenen Harnstoffes auch notwendige Harnverdünnung unter die Schwelle der Nachweisbarkeit herabgedrückt werden. — Es war daher die Aufgabe gestellt: in großen Harnmengen die Allantoinkonzentration ohne die Harnstoffkonzentration zu steigern und dann erst den Harn in der angegebenen Weise auf Allantoin zu verarbeiten. Außerdem erforderte das hier relativ reichliche Vorhandensein jener erwähnten, gleichzeitig mit dem Allantoin ausfallenden, mit Hg-Sulfat fällbaren Substanzen aber auch die Ökonomie des Arbeitens eine Modifikation der Methode, um diese für Menschenharn brauchbar zu machen. Da der Menschenharn sehr reichlich PWS-fällbare Substanzen enthält, ist der Verbrauch dieses kostspieligen Reagens enorm (man braucht meist die Hälfte des Harnvolumens an 50 $^0/_0$ PWS zur völligen Erschöpfung). — Geht man demnach, wie meist zweckmäßig von 1 Liter Harn aus, so sind für eine Betimmung 250 g PWS nötig.) Auch der hohe Chloridgehalt des Menschenharnes verteuert das Arbeiten durch die Notwendigkeit, massenhaft Silberacetat zu verbrauchen. Außerdem wird noch bei einer dreimaligen Fällung (PWS, Blei, Silber) von 1 Liter Harn das Volumen nicht nur ganz unhandlich groß, sondern die Prozeduren nehmen auch sehr viel Zeit in Anspruch. — Ich umgehe aus diesen Gründen zunächst die Verwendung von PWS und Silberacetat, aber auch von Bleiacetat, welche alle ich durch 20 $^0/_0$ Mercuronitratlösung ersetze. Diese fällt alle anorganischen Säuren des Harns und die Hauptmasse der basischen Stoffe. Das Filtrat reagiert allerdings noch mit PWS, ist aber, wenn der Harn frisch ist, d. h. nicht viel Ammoniak enthält, doch zu der nun folgenden Allantoinanreicherung geeignet. Ist dagegen viel Ammoniak vorhanden, so ist die letztere, wie man sich leicht überzeugt, gehemmt,

und man muß in solchen Fällen doch zur PWS greifen oder das NH_3 zuvor etwa in der Weise entfernen, wie ich es l. c. beschrieben habe (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 193, 1909). In den allermeisten Fällen ist das aber nicht nötig. — Um einen Überschuß an Mercuronitrat zu vermeiden, taste ich die gerade völlig ausfällende Menge vorher in 2 ccm betragenden Harnmengen auf $^1/_{10}$ ccm genau aus. Der Mercuronitratniederschlag ist sehr mächtig und soll gründlich gewaschen werden (bis das Filtrat nicht mehr mit Mercurinitrat reagiert). Das Filtrat (welches sich beim Stehen meist noch gelblich trübt) wird samt den Waschwässern mit H_2S von Quecksilber befreit, das ausgefällte HgS seinerseits ausgewaschen und die erhaltene Flüssigkeit nach genauer Neutralisierung mit Cl-freier Sodalösung so lange mit 20% Mercurinitratlösung versetzt, bis das Filtrat auf Zusatz weniger Tropfen einer frischen, verdünnten (ca. 0,1%) Allantoinlösung mit Bildung einer weißen Fällung reagiert. Die hierzu nötige Menge tastet man vorher in kleinen Voluminis aus. Es zeigt sich, daß schon nach verhältnismäßig geringem Zusatz (meist $^1/_{20}$ bis $^1/_{10}$ Volumen) dieser Punkt erreicht ist, bei dem man sicher sein kann, alles Allantoin gefällt zu haben.[1])

---

[1]) Bei sukzessivem Zusetzen der Mercurinitratlösung sieht man, daß der zuerst entstehende Niederschlag sich beim Umrühren wieder löst, erst bei weiterem Zusatz entsteht ein dauernder Niederschlag. Dieses Verhalten wird durch den Harnstoff verursacht. Die Verbindung desselben mit Mercurinitrat ist nämlich in Harnstofflösung löslich, und erst wenn die Konzentration dieser Lösung einen gewissen Grad erreicht hat, fällt ein Teil der Verbindung aus. Bemerkenswerterweise ist nun — und das begründet die Möglichkeit, auf diese Weise das Allantoin aus Harnstofflösungen anzureichern — die Allantoinverbindung mit Mercurinitrat in Harnstofflösungen viel weniger löslich als die entsprechende Harnstoffverbindung. Setzt man zu einer reinen ca. 1%igen Harnstofflösung nur so viel Mercurinitrat, daß der entstehende Niederschlag sich noch löst, oder filtriert von der geringen partiellen Fällung ab, so reagiert die klare Flüssigkeit bzw. das Filtrat auf Zusatz von Allantoinlösung sofort mit Bildung der weißflockigen Allantoin-Hg-Verbindung. Das Allantoin ist eben durch Hg-Verbindungen so leicht fällbar, daß es selbst durch die in Harnstoff gelöste Mercurinitrat-Harnstoffverbindung niedergeschlagen wird. Hat man also zu dem durch Mercuronitrat gereinigten Harne bis zu dem Punkte Mercurinitrat zugesetzt, wo das Filtrat mit Allantoinlösung eine Fällung gibt, so ist noch so viel in Harnstoff gelöste Mercurinitrat-Harnstoff-Verbindung vorhanden, daß alles Allantoin in dem entstandenen Niederschlag enthalten sein muß. In der Tat ist das Filtrat dieser partiellen Mercurinitratfällung reich an gelöstem Hg. Erzeugt man in demselben eine neuerliche Fällung durch weiteren Mercurinitratzusatz, so erweist sich diese im Gegensatz zur ersten nach dem Zersetzen frei von Allantoin: Die Zersetzungsflüssigkeit reagiert nach Reinigung mit PWS und Bleiessig gar nicht mit 0,5% Hg-Acetatlösung. — Da für die Mercurinitratfällung von Allantoin und Harnstoff

Durch den so bemessenen Mercurinitratzusatz wird neben allem Allantoin ein geringer Teil des vorhandenen Harnstoffes, Ammonsalze und organische basische Verbindungen, die der Mercuronitratfällung entgangen waren, gefärbte Substanzen usw. niedergeschlagen. Nach 24^h Stehen wird der Niederschlag quantitativ auf einem Faltenfilter gesammelt, einige Male mit Wasser (eventuell bis zur beginnenden kolloidalen Lösung) gewaschen, samt dem Filter in Wasser verteilt, durch H_2S in der Kälte zersetzt, der H_2S durch Luft verdrängt, das HgS abfiltriert und gründlich ausgewaschen (bis das Filtrat nicht mehr mit Mercurinitrat reagiert); Filtrat und Waschwässer werden genau neutralisiert und auf dem Wasserbade, je nach der Menge des in Arbeit genommenen Harnes auf ein Volumen von 20 bis 100 ccm eingeengt. In der so erhaltenen Flüssigkeit ist das Allantoin bei geringer Harnstoffkonzentration angereichert, und man kann nun weiter genau so verfahren, wie es für den Tierharn beschrieben worden ist, nur mit dem Unterschiede, daß, da die Flüssigkeit chloridfrei ist, die Fällung mit Silberacetat wegbleibt. Die meist tief dunkel gefärbte Flüssigkeit wird mit 50% PWS[1]) bei Anwesenheit von 10% Schwefelsäure genau gefällt. Filtrat und Waschung, die mit 5% PWS vorgenommen wird, durch Bleioxyd neutralisiert, hierauf noch 20% Bleiessig bis zur völligen Ausfällung hinzugefügt, auf der Nutsche filtriert und gewaschen, Filtrat und Waschwasser mit H_2S entbleit, der H_2S ausgeblasen, Filtrat und Waschwässer vom Bleisulfid mit Sodalösung genau neutralisiert und mit einem Überschuß 0,5% Hg-Acetat in 30% Na-Acetatlösung gefällt. Man läßt klar absetzen, sammelt den Niederschlag auf einem glatten Filter und wäscht ihn so lange, bis das Filtrat nicht mehr mit Mercurinitrat reagiert. Der Niederschlag wird in ein Becherglas gespritzt und in der Hitze mit H_2S zerlegt. Hierbei beobachtete man zumeist, daß der Niederschlag zunächst gelb und dann erst ganz allmählich schwarz wird; dieses bei der H_2S-Zersetzung vieler Hg-Verbindungen zu

---

dieselben Gesichtspunkte Geltung haben wie für die Hg-Acetatfällung des Allantoins (d. h. insbes. Hemmung durch Chloride und viel Ammonsalze, gleichzeitige Fällung der Purine usw., s. o.) so ist es eben nötig, den Harn vorher durch Behandlung mit Mercuronitrat von den störenden Substanzen zu befreien.

[1]) Man braucht nur wenig PWS-Lösung. Die Fällung filtriert auf der Nutsche klar, das Waschen macht jedoch Schwierigkeiten, da bald kolloidale Lösung eintritt. Man kann dies vermeiden, wenn man auf dem Filter eine dünne Schicht gut geglühtes Kieselgur ausbreitet. Das Kieselgur wird in Wasser suspendiert, etwas Schwefelsäure zugesetzt und nach dem Absetzen gröberer Partikel die Suspension auf das Filter gegossen, scharf abgesaugt und einige Male mit Wasser nachgewaschen. Die Kieselgurschicht liegt fest an, wird nicht rissig und durch Aufgießen nicht aufgewirbelt. Ein solches Filter verhindert die kolloidale Lösung des Niederschlages völlig, es hat sich mir auch zu vielen anderen Zwecken bewährt.

beobachtende Phänomen deutet in unserem Falle darauf hin, daß das gefällte Allantoin noch erheblich verunreinigt ist, denn reines Allantoin-Hg wird mit H_2S sofort schwarz. Bei der Zersetzung des Niederschlages wird das meiste HgS kolloidal. Man verdampft daher die ganze Zersetzungsflüssigkeit in einer Glasschale auf dem Wasserbade zur Trockne, wobei das HgS ausflockt. Bei Verarbeitung von Tierharn krystallisiert hierbei schon das Allantoin aus. Nicht so beim Menschenharn, hier sind meist noch gefärbte Substanzen verhältnismäßig reichlich mit gefällt, welche die Krystallisation hemmen. Man behandelt mit heißem Wasser, schüttet durch ein kleines Filter, wäscht aus und engt in einer entsprechend kleinen geradwandigen Schale auf ein kleines Volumen (2 bis 5 ccm) ein. Die Flüssigkeit ist dunkelgelb gefärbt, sie wird mindestens mit dem gleichen Volumen einer 3% Auflösung von Quecksilbersulfat in 10% Schwefelsäure versetzt. Es entsteht meist ein ansehnlicher gelber Niederschlag. Nach dem völligen Absetzen filtriert man, wäscht aus, entfernt aus dem Filtrate durch H_2S das Hg, den H_2S durch Luft, filtriert, wäscht, neutralisiert und fällt das Allantoin noch einmal mit 0,5% Hg-Acetatlösung. Dieser Niederschlag wird ebenso behandelt wie der zuerst erzeugte. Nach dem Zersetzen wird wieder zur Trockne verdampft, in heißem Wasser gelöst, filtriert, gewaschen und auf ein kleines Volumen eingeengt. Diese nunmehr sehr wenig gefärbte Flüssigkeit behandelt man mit ein paar Tropfen 50% PWS und das Filtrat mit Bleiessig, wobei man genau so verfährt wie bei der ersten PWS-Fällung; Fällung und Filtration sind in kleinsten — dem Volumen von 2 bis 5 ccm entsprechendem — Gefäßchen mit ebensolchen Filtern vorzunehmen, um die Fällung, was wichtig ist, bei möglichster Konzentration zu erzeugen, da sich gezeigt hat, daß die verunreinigenden Substanzen nur hierbei niedergeschlagen werden. Das Blei entfernt man mit H_2S und fällt in derselben Weise nach dem Neutralisieren schließlich das Allantoin zum dritten Male, behandelt den Niederschlag wie früher, zersetzt, verdampft zur Trockne, löst in heißem Wasser, filtriert und engt in kleinsten geradwandigen Krystallisierschalen ($1{,}5 \times 2$ cm) auf etwa 0,2 bis 0,3 ccm ein (bei 1 Liter Ausgangs-Harnmenge). Nach einigem Stehen (nicht im Exsiccator) krystallisiert das Allantoin in wohlausgebildeten Krystallen. Durch Zusatz von Eisessig läßt sich die Krystallisation beschleunigen. — Bevor man das Allantoin auskrystallisieren läßt, kann man noch eine Reinigung der Lösung mit Alkohol ebenfalls in kleinstem Volumen versuchen. Wässerige Allantoinlösungen werden durch Alkohol nicht gefällt. — Die schließlich erhaltenen Krystalle, welche meist wohl ausgebildet und groß sind (nur bei Verwendung von Eisessig scheidet sich das Allantoin klein krystallinisch aus), werden auf einem kleinsten gehärteten Filter (2 cm Trichterdurchmesser) gesammelt, vor der Luftpumpe mit $^1/_2$ bis 1 ccm Wasser oder Eisessig tropfenweise, und hierauf ebenso mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 100° getrocknet, vom Filter mittels Federfahne auf eine Schale gebracht und gewogen. Sie sind meist nur wenig gefärbt. Die Mutterlauge enthält nur Spuren von Allantoin, man kann sie nach demselben Gange

zweckmäßig zusammen mit der beim eventuellen Umkrystallisieren erhaltenen zweiten Mutterlauge noch auf Allantoin verarbeiten.

Das so aus Menschenharn erhaltene, einmal umkrystallisierte Allantoin (aus 1 Liter etwa 3 bis 4 mg) ist rein. Es schmilzt bei 230 bis 232° unter Zersetzung, ebenso nach Mischung mit reinem Allantoin (Merck) v. F. P. 230°, verbrennt ohne Rückstand, ist schwer in Wasser löslich, die Lösung reagiert nicht mit PWS, Bleiessig, Mercuronitrat und Mercurisulfat in schwefelsaurer Lösung, dagegen entsteht mit Mercurinitrat, mit Hg-Acetat in Natriumacetatlösung und mit Silbernitrat + wenig Ammoniak eine flockige Fällung. Die N-Bestimmung in 0,0770 g des Produktes nach Dumas ergab 24,5 ccm N (t = 20°; b = 742,6 mm) = 0,027342 g.

Gefunden: 35,50%; Berechnet für $C_4H_6N_4O_3$: 35,44% N.

Zur Kenntnis der Blutgase wirbelloser Seetiere.

Von

Hans Winterstein.

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)

(Eingegangen am 12. Juni 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Unsere Kenntnisse über die respiratorischen Eigenschaften der Körperflüssigkeiten der niederen Tiere sind bisher äußerst dürftig; die wenigen vorliegenden Daten zum Teil widersprechend. Systematische Angaben über diesen Gegenstand liegen bisher bloß von einem Autor, Griffiths, vor, dessen Analysen aber leider, wie wir sehen werden, völlig aus der Luft gegriffen zu sein scheinen. Die vorliegende Untersuchung hatte den Zweck, über das Sauerstoffbindungsvermögen und die respiratorische Bedeutung derjenigen Körperflüssigkeiten wirbelloser Seetiere einen Überblick zu gewinnen, für welche das Vorhandensein respiratorischer Proteide angegeben worden ist.

Methodische Vorbemerkungen.

Die von wirbellosen Tieren erhältlichen Blutmengen sind im allgemeinen recht gering. Noch viel geringer aber ist im Vergleich zu den Säugetieren die aus dem gleichen Blutquantum gewinnbare Gasmenge, da, wie wir sehen werden, sowohl Sauerstoff- wie Kohlensäuregehalt für gewöhnlich weit hinter demjenigen des Säugetierblutes zurückbleiben. Um brauchbare Resultate zu erzielen, ist daher eine diesen besonderen Verhältnissen angepaßte Methodik erforderlich.

Französische Autoren haben sich zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes des Blutes wirbelloser Tiere mit Vorliebe des Schützenbergerschen Titrationsverfahrens bedient. Gegen die

Anwendung einer chemischen Bestimmungsmethode bei Flüssigkeiten von ungenügend bekannter chemischer Zusammensetzung erheben sich jedoch gewichtige Bedenken. Betrachtet man gemäß der beim Säugetierblute üblichen Auffassungsweise das Dissoziationsvermögen der supponierten Sauerstoffverbindung als Maß ihrer respiratorischen Wirksamkeit, dann kann zunächst auch nur die Messung des im Vakuum abgegebenen Sauerstoffs ein genaues Bild der letzteren liefern. In der Tat hat die Titration des Sauerstoffs auch im Säugetierblut widersprechende und von den Resultaten der Auspumpung völlig abweichende Werte ergeben.

Ich habe mich daher der gasanalytischen Methodik bedient, die bei geeigneter Modifikation auch bei sehr kleinen Gasmengen eine für physiologische Zwecke völlig ausreichende Genauigkeit erzielen läßt. Zum Auspumpen des Blutes diente eine Toeplersche Quecksilberpumpe in der von Bohr[1]) empfohlenen Form, die unter anderem den Vorteil bietet, daß sie ein Schütteln des Rezipienten während des Auspumpens und dadurch ein rasches Evakuieren ohne zu starkes Erhitzen ermöglicht, das zu Zersetzungen Anlaß geben könnte. Die von mir verwendete Pumpe unterschied sich von der Bohrschen im wesentlichen nur durch die den kleineren Flüssigkeitsmengen angepaßten geringeren Dimensionen; an Stelle der bauchigen Pumpenkammer war eine einfach zylindrische angebracht von jenen Ausmaßen, wie sie vor längerer Zeit Barcroft[1]) als zweckmäßig empfohlen hat. Ebenso wurde an Stelle der bei einer transportablen Pumpe nicht verwendbaren Hebung des Quecksilbers durch Wasserdruck das Quecksilberreservoir mittels einer über eine Rolle geführten und durch ein Gegengewicht belasteten Schnur mit der Hand gehoben und gesenkt, ein gleichfalls von Barcroft[2]) empfohlenes Verfahren, das bei kleinen Dimensionen der Pumpe viel rascher und bequemer ist als eine Windevorrichtung.

Die Pumpe stand dauernd luftleer. Zur Austreibung der Kohlensäure wurden in den Blutrezipienten zunächst etwa

[1]) Chr. Bohr, Blutgase und respiratorischer Gaswechsel. Nagels Handb. d. Physiol. 1, 1. Hälfte, S. 220f.

[2]) J. Barcroft, The gaseous metabolism of the submaxillary gland. Journ. of Physiol. 25, 265, 1899 bis 1900.

20 ccm ca. 4 % Borsäure gebracht; diese Maßregel ist erforderlich, auch wenn auf die genaue Bestimmung der Kohlensäure kein Wert gelegt wird, da sonst infolge der sehr allmählichen Dissoziation der Carbonate die Auspumpung fast endlos weiter geht. Die Evakuation des mit Borsäure beschickten Rezipienten wurde meist am Tage vor dem Versuche vorgenommen und die Pumpe mit dem Rezipienten dann noch 12 bis 24 Stunden luftleer gelassen. Unmittelbar vor Einfüllung der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden die letzten Gasreste nochmals entfernt. Die Einführung der auszupumpenden Flüssigkeit erfolgte, wenn es sich um luftgesättigtes Blut handelte, durch Ansaugen aus einer in $^1/_{10}$ ccm geteilten Pipette. Zur Sättigung des Blutes mit Luft diente eine sehr einfache Vorrichtung, die sich gut bewährt hat: Das Blut (meist 5 bis 15 ccm) wurde in einen $^1/_4$ bis $^1/_2$ l fassenden Glaskolben gebracht, der dann mit einem Stopfen verschlossen und horizontal auf einer vertikal gestellten Drehscheibe befestigt wurde, die ein Elektromotor 15 bis 30 Minuten lang in rasche Umdrehung versetzte. Handelte es sich um die Untersuchung des im lebenden Tier zirkulierenden Blutes, so wurde dieses zunächst über Quecksilber in eine mit der Gefäßkanüle verbundene, in $^1/_{50}$ ccm geteilte Meßröhre aufgesaugt und dann aus dieser in den Blutrezipienten der Pumpe überführt. Die untere Fläche des Rezipienten tauchte in ein Wasserbad von ca. 40° C, während durch den darüber befindlichen Kühler ein möglichst starker Strom kalten Wassers geleitet wurde. Bei jedem Niedergange des Quecksilbers in der Pumpe wurde der Rezipient kräftig durchgeschüttelt. Bei diesem Verfahren war die Auspumpung sehr rasch, meist in 15 bis 20 Minuten vollständig beendet.

Die auf diese Weise gewonnene Gasmenge war, wie schon erwähnt, im allgemeinen sehr gering, meist zwischen $^1/_2$ und 1 ccm. Die Analyse so kleiner Gasmengen mit einer für physiologische Zwecke ausreichenden Genauigkeit begegnet bei Anwendung geeigneter Meßapparate durchaus keinen besonderen Schwierigkeiten. Ich verwendete zu diesem Zwecke einen Petterssonschen Analysenapparat[1]), der mit einer Meßbürette

---

[1]) Die Pumpe sowie sämtliche Meßapparate waren von Dr. Geißler Nachf. Franz Müller in Bonn bezogen.

von besonderer Form versehen war: Der obere, 13 ccm fassende Teil derselben war in 0,05 ccm geteilt und zur Analyse größerer Gasmengen bestimmt; er kam bei den vorliegenden Versuchen niemals in Anwendung. Der untere Teil war in ein langes, genau kalibriertes Capillarrohr ausgezogen, und mit Millimeterteilung versehen. 1 mm der Teilung entsprach einem Volumen von 8 cmm, so daß noch 0,8 cmm gut abgelesen werden konnten. Bei Verwendung der Capillare muß der obere Teil der Bürette natürlich mit einem sauerstoff- und kohlensäurefreien Gas gefüllt sein, das stets vorrätig gehalten wurde, indem nach Beendigung der Analyse eine entsprechende Menge des restierenden Gases in die Sauerstoffabsorptionspipette überführt und in dieser aufbewahrt wurde.

Zur Absorption der Kohlensäure diente ca. 70% Kalilauge, zur Absorption des Sauerstoffs die gleiche Lösung mit Pyrogallussäure gesättigt. Ich habe gefunden, daß bei der sehr geringen Menge der zu absorbierenden Gase (die gesamte zu analysierende Gasmenge betrug ja meist nur etwa 5% des in der Bürette enthaltenen Gases) ein sehr häufiges Überführen in die Absorptionspipette erforderlich ist, um eine vollständige Absorption zu bewirken. Ich habe im allgemeinen stets etwa 15mal in die Kalilauge überführt und bei der Absorption des Sauerstoffs es zweckmäßig gefunden, zur Erzielung genauer Resultate das wiederholte Überführen der Gase mit einem längeren Aufenthalte in der Absorptionspipette zu kombinieren und folgendermaßen zu verfahren: Das Gasgemisch wurde zuerst 6 bis 8mal in die Absorptionspipette überführt und wieder zurückgesaugt, darauf 5 Minuten in der Pipette belassen dann wieder 6 bis 8mal überführt, neuerlich durch 5 Minuten in der Pipette belassen und zum Schlusse nochmals 6 bis 8mal überführt. Es ist weniger zeitraubend, die Absorption gleich das erstemal so gründlich vorzunehmen, daß ihre Vollständigkeit völlig gesichert ist, als zunächst eine Ablesung vorzunehmen und sich nach weiterer Überführung durch eine zweite Ablesung von der Vollständigkeit der Absorption zu überzeugen.

Die Ablesung kann nämlich keineswegs unmittelbar nach der Absorption vorgenommen werden. Die Gase werden im Petterssonschen Apparat bekanntlich feucht gemessen; sowohl die Gasbürette wie das Kompensationsgefäß muß ein

wenig Wasser zur Sättigung der Gase mit Feuchtigkeit enthalten. Durch Überführung in die konzentrierten Absorptionsflüssigkeiten aber werden die Gase fast vollständig getrocknet, und es ist einige Zeit erforderlich, bis nach Beendigung der Absorption das in der Bürette enthaltene Gas sich neuerlich mit Feuchtigkeit gesättigt hat. Das unmittelbar nach der Absorption abgelesene Gasvolumen erfährt daher eine allmähliche Zunahme, die bei geöffneter Verbindung mit dem Indextropfen in einer Wanderung desselben ohne weiteres zum Ausdruck kommt. Diese durch den Wasserdampf bedingte Volumänderung kann unter Umständen 10 und mehr Kubikmillimeter betragen, ein Wert, der zwar bei den sonst üblichen Dimensionen der Gasbüretten kaum in Betracht kommt, im vorliegenden Falle jedoch von großer Bedeutung ist.[1]) Um genaue Resultate zu erzielen, muß man daher in Abständen von etwa 2 bis 3 Minuten so lange Ablesungen vornehmen, bis zwei aufeinander folgende Ablesungen den gleichen Wert ergeben. Die Schnelligkeit des Ausgleichs der Dampfspannungen hängt hauptsächlich von der in der Bürette enthaltenen Wassermenge ab, und es ist daher zweckmäßig, die Wände der Bürette so feucht zu erhalten, als es ohne Ansammlung einer (auch nur capillaren) Flüssigkeitsschicht über der Quecksilberkuppe möglich ist, deren Vorhandensein natürlich die Genauigkeit der Ablesung beeinträchtigen würde.

Zur Vermeidung der parallaktischen Verschiebung bei der Ablesung ohne Fernrohr verwendet Krogh[2]) ein rechtwinkeliges Holzstück, in dessen obere zugeschärfte Fläche eine 6 bis 8fach vergrößernde Linse bis zur Hälfte eingelassen ist. Die senkrechte Fläche des Holzstücks wird an die Glaswand, an welcher abzulesen ist, angelegt, und man visiert über die obere horizontale Kante. Ich habe diese ebenso einfache wie zweckmäßige Vorrichtung geringfügig modifiziert, da ich das Visieren über eine

---

[1]) Schon an anderer Stelle (Der respiratorische Gaswechsel des isolierten Froschrückenmarks. Centralbl. f. Physiol. 21, 869, 1908) habe ich auf die große Bedeutung hingewiesen, welche dem Ausgleich der Dampfspannungen nach Beendigung der Absorption bei mikrorespirometrischen Untersuchungen zukommt.

[2]) A. Krogh, On micro-analysis of gases, Skand. Arch. f. Physiol. 20, 283, 1908.

Kante wegen der Unmöglichkeit einer scharfen Akkommodation lästig gefunden habe. Die Linse wurde nicht bis ganz zur Mitte in das Holz eingelassen; in einigem Abstande von der Linse wurde in die obere Holzkante eine Nadelspitze eingefügt, deren Länge dem Abstande des Linsenmittelpunktes von der Holzkante entsprach. Bei der Ablesung wird der durch einen schwarzen Punkt markierte Mittelpunkt der Linse mit der Spitze der Nadel und der Kuppe des Quecksilbers in eine Linie gebracht, wie dies die nebenstehende Figur zeigt (ein auch für genaue Ablesungen an Titrationsbüretten sehr zu empfehlendes Verfahren). Bei Beobachtung aller dieser Vorsichtsmaßregeln (Vollständigkeit der Absorption, völliger Ausgleich der Dampfspannung, Genauigkeit der Ablesung) gelingt es, wie gleich gezeigt werden soll, selbst bei sehr geringen Gasmengen eine befriedigende Genauigkeit der Analyse zu erzielen.

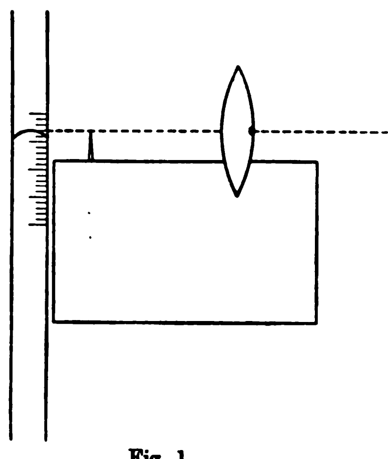


Fig. 1.

Die relative Genauigkeit der verwendeten Methode ergibt sich aus einer Reihe von Doppelanalysen, die an luftgesättigten Körperflüssigkeiten von verschiedenem Sauerstoffgehalt ausgeführt wurden. Sie sind in der folgenden Tabelle (S. 390) zusammengestellt, in welcher die Menge der ausgepumpten Flüssigkeit (in ccm), das Volumen der gesamten Gase und des darin enthaltenen Sauerstoffs (in cmm), der daraus berechnete prozentische Sauerstoffgehalt der Flüssigkeit und die bei den Doppelanalysen sich ergebende Differenz dieses Sauerstoffgehaltes angegeben ist.

Die größte in dieser Zusammenstellung sich findende Differenz von 0,23 % wurde in einem der ersten, bei noch unzureichender Schulung angestellten Versuche beobachtet; in allen folgenden geht die Differenz, selbst bei sehr kleinen Sauerstoffmengen (Nr. 5) nicht über 0,1 % hinaus. Nr. 3, in welchem drei mit dem gleichen Blut angestellte Analysen eine maximale

Nr. des Versuches	Flüssigkeit in ccm	Gas in cmm	Sauerstoff in cmm	Prozent-Gehalt an Sauerstoff	Differenz der Analyse in Vol-%
1	10,0	1245,0	415,0	4,15	0,23
	20,0	2428,3	876,0	4,38	
2	4,5	449,7	225,6	5,01	0,09
	3,5	342,8	172,1	4,92	
3	7,0	597,8	320,2	4,57	0,02
	3,8	346,0	174,5	4,59	0,02
	8,0	866,5	367,4	4,59	0,00
4	10,0	2592,4	112,5	1,13	0,03
	10,0	2645,2	109,5	1,10	
5	10,0	914,4	63,5	0,63	0,10
	10,0	878,8	52,9	0,53	
6	1,0	610,4	192,8	19,28	0,04
	2,0	1138,4	386,4	19,32	

Differenz von nur 0,02 % ergaben, zeigt, eine wie große Übereinstimmung erzielt werden kann. Nicht minder bemerkenswert ist die Übereinstimmung auf 0,04 % in Versuch 6, bei welchem 1 bzw. 2 ccm Rinderblut verwendet wurden. Wenn auch diese große Übereinstimmung als zufällig bezeichnet werden muß, da bei 1 ccm Flüssigkeit einem Kubikmillimeter bereits eine Differenz von 0,1 % entspricht, so zeigt der Versuch doch jedenfalls, daß mit der angewendeten Methode auch in ganz kleinen Blutmengen eine exakte Sauerstoff- und wohl auch Kohlensäurebestimmung durchführbar ist. Für den Stickstoff, auf welchen als bloßen Differenzwert sich die Fehler der Analyse häufen und auch die geringste Undichtigkeit der Pumpe bereits einen Einfluß ausüben kann, ist die erzielbare Genauigkeit viel geringer. Hier können die Differenzen unter gewöhnlichen Bedingungen mehr als $\frac{1}{2}$ % betragen, bei ganz kleinen Flüssigkeitsmengen, also sehr großen Multiplikationen, wohl auch unbrauchbare Resultate ergeben. Über die relative Genauigkeit der Kohlensäurebestimmung (deren Feststellung besondere Maßregeln erfordert hätte, um den Kohlensäuregehalt der untersuchten Blutprobe konstant zu erhalten) habe ich keine Versuche angestellt, doch ist kein Grund zu der Annahme vorhanden, daß sie hinter jener der Sauerstoffbestimmung wesentlich zurückbleibe.

Was die absolute Genauigkeit der Methode anlangt, so sind direkte Versuche hierüber nicht angestellt worden. Sie muß abhängen 1. von der Vollständigkeit der Auspumpung und 2. von der absoluten Genauigkeit der Analyse. Was die erstere betrifft, so wird man wohl annehmen dürfen, daß die Gewinnung des Sauerstoffs und Stickstoffs und — wie aus der schnellen Beendigung der Auspumpung hervorgeht — bei Säurezusatz auch der Kohlensäure praktisch als quantitativ betrachtet werden kann. Was die absolute Genauigkeit der Analyse betrifft, so sind die durch Unvollständigkeit der Absorption oder des Ausgleichs der Dampfspannung entstehenden Fehler bei Beobachtung der früher erwähnten Vorsichtsmaßregeln vermeidbar; die Fehler der Einstellung und Ablesung kommen, da sie in verschiedenem Sinne wirken können, bei Bestimmung der relativen Genauigkeit zum Ausdruck. So bleiben nur die prinzipiellen Fehler des Apparates, die bei der unübertrefflichen Präzision der Einstellung auf gleichen Gasdruck sich im wesentlichen auf das Vorhandensein schädlicher Räume reduzieren. Diese schädlichen Räume sind dreifacher Art: Der eine besteht darin, daß bei der Überführung der Gase in die Absorptionspipetten nicht alles Gas bis zu diesen verdrängt werden kann, sondern eine kleine Menge in der Capillare zwischen der Absorptionspipette und der Meßbürette zurückbleibt und so der Einwirkung der Absorptionsflüssigkeit entgeht. Je häufiger aber die Überführung erfolgt, um so geringer wird diese Gasmenge, und bei genügend gründlicher Wiederholung dieser Manipulation, wie sie oben empfohlen wurde, kommt dieser Fehler völlig in Fortfall. Ein weiterer, bloß für die Sauerstoffbestimmung in Betracht kommender schädlicher Raum entsteht dadurch, daß nach Beendigung der Kohlensäureabsorption eine kleine Sauerstoffmenge in der zu der Kohlensäure-Absorptionspipette führenden Capillare zurückbleibt und der Sauerstoffbestimmung entgeht. Wenn aber, wie in unseren Versuchen, bei denen die Meßbürette zum größten Teil mit reinem Stickstoff gefüllt war, der Prozentgehalt des Gases an Sauerstoff ein sehr geringer und außerdem bei den verschiedenen Analysen ein annähernd gleicher ist, die Capillare also vor der Analyse etwa die gleiche Sauerstoffmenge enthält wie nachher, so wird wohl auch dieser Fehler auf ein unmerkliches Maß herabgedrückt. Der dritte

schädliche Raum endlich liegt in der zum Indextropfen führenden Capillare, in welche in den Momenten der Einstellung etwas von der zu untersuchenden Gasmenge entweichen kann; doch dürfte es sich auch hierbei um kaum meßbare Fehler handeln. Im allgemeinen wird man demnach annehmen dürfen, daß trotz der genannten Fehlerquellen (die überhaupt nur bei Analysen so kleiner Gasmengen eine Erwähnung rechtfertigen) die absolute Genauigkeit der Bestimmungen hinter der relativen nicht sehr wesentlich zurückbleibt.

Im folgenden sollen nun die Resultate der mit dieser Methodik angestellten Untersuchungen besprochen werden; die genaueren analytischen Belege sind als Anhang beigefügt.

1. Hämocyaninhaltiges Blut.

Über den Sauerstoffgehalt hämocyaninhaltigen Blutes von Mollusken und Crustaceen liegen eine Reihe einander durchaus widersprechender Angaben vor. Als erste haben Jolyet und Regnard[1]) das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes von Krebsen und Krabben untersucht und zu 2,4 bis 4,4 Vol.-% gefunden. Richet[2]) hingegen wollte im Blute der Languste 13,44%, Griffiths[3]) im Blute verschiedener Mollusken und Crustaceen sogar 12 bis 15% Sauerstoff (und 27 bis 34% Kohlensäure) gefunden haben. Demgegenüber hat Heim[4]) die respiratorische Bedeutung des Hämocyanins überhaupt in Abrede gestellt, da er beobachtet haben wollte, daß der Sauerstoffgehalt des Crustaceenblutes im allgemeinen dem des Seewassers entspreche. Da die tatsächlich von ihm gefundenen Werte aber im Mittel zwischen 3,5 und 5,6% betragen, mithin zum Teil fast 10mal so groß sind als der Sauerstoffgehalt des Seewassers, so geht daraus hervor, daß er von dem letzteren eine

[1]) Jolyet et Regnard, Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques. Arch. de Physiol. 2. Sér., 4, 584, 1877.

[2]) Ch. Richet, De l'hémoglobine et de ses combinaisons avec les gaz, Progrès médical 7, 600, 1879.

[3]) A. B. Griffiths, On the blood of the invertebrata. Proc. Roy. Soc. of Edinborough 18, 288, 1890/91; 19, 116, 1892.

[4]) F. Heim, Sur la matière colorante bleue du sang des Crustacés. Compt. rend. de l'Acad. 114, 771, 1892; Études sur le sang des Crustacés décapodes, Thèse, Paris 1892.

ganz falsche Vorstellung besaß. Cuénot[1]) fand im Schneckenblute 1,15 bis 1,28 %, Dhéré[2]) im Schnecken-, Hummer- und Krebsblute 1,5 bis 3,1 %. Henze[3]) schließlich fand in zwei Analysen des Octopusblutes 3,70 und 3,09 % Sauerstoff.

Jolyet und Regnard, Griffiths und Henze haben sich gasanalytischer Methoden bedient; alle übrigen Angaben sind durch Titration nach dem Schützenbergerschen Verfahren gewonnen, auf dessen Unzulässigkeit oder wenigstens Unzuverlässigkeit bei derartigen Untersuchungen bereits eingangs hingewiesen wurde; die letzteren Angaben sollen daher im folgenden nicht weiter berücksichtigt werden.

Meine Untersuchungen wurden an Octopus vulgaris, Palinurus vulgaris und Maja squinado angestellt, die meisten an Octopus vulgaris, dessen Blutgase in mehrfacher Beziehung ein größeres Interesse erweckten.

A. Octopus vulgaris.

a) Das Sauerstoffbindungsvermögen des luftgesättigten Blutes.

Die Gewinnung des Blutes erfolgt am besten nach dem von Fredericq[4]) empfohlenen Verfahren: Das Tier wird an einem Holzbrett festgenagelt und dann ein Tuch herumgelegt, welches bloß Kopf und Mantelsack freiläßt. Durch diese Art der Fixierung wird weder die Zirkulation noch die Atmung stärker beeinträchtigt. Dann wird der Mantel in der Mittellinie der Rückseite aufgeschnitten, worauf sogleich die starke, kräftig pulsierende Dorsalarterie hervortritt, die bei größeren Exemplaren etwa das Lumen einer Kaninchenjugularis besitzt und so leicht das Einbinden einer Kanüle gestattet, aus der das Blut in starkem Strahle hervorspritzt.

[1]) L. Cuénot, La valeur respiratoire de l'hémocyanine. Compt. rend. de l'Acad. 115, 127, 1892.

[2]) Ch. Dhéré, Le cuivre hématique des invertébrés et la capacité respiratoire de l'hémocyanine. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 52, 458, 1900.

[3]) M. Henze, Zur Kenntnis des Hämocyanins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 370, 1901.

[4]) L. Fredericq, Recherches sur la physiologie du poulpe commun. Arch. de Zool. expér. 7, 535, 1878.

Die Bestimmung des Sauerstoffbindungsvermögens des in der früher beschriebenen Weise bei 17 bis 22° C mit Luft gesättigten Blutes wurde in einer größeren Zahl von Versuchen vorgenommen, deren Resultate in der folgenden Tabelle zusammengestellt sind. Die durch Buchstaben gekennzeichneten Werte derselben Rubrik sind mit dem Blute des gleichen Tieres erhalten.

Nr. des Versuches	100 Teile Blut enthalten:		
	CO_2	O_2	N_2
2 a	4,31	4,34	0,69
2 b	5,68	4,10*	?
3 a	7,12	4,15	1,18
3 b	6,61	4,38	1,15
4	0,78**	4,21	1,51
5 a	?	4,02***	?
5 b†	6,96	4,23	1,07
6†	4,56	4,71	1,10
8†	3,87	4,94	1,61
9 a	3,35	5,01	1,63
9 b	2,93	4,92	1,95
11	4,30	3,82(?)	1,45
12	4,71	1,51(?)	0,98
14 a	2,79	4,57	1,18
14 b	3,25	4,59	1,26
14 c	5,06	4,59	1,18
16	4,50	4,21	1,08
17	1,82	4,85	1,36

* Durch Verlust einer kleinen Gasmenge vermutlich etwas zu gering. — ** Ohne Borsäure ausgepumpt. — *** Durch Verlust einer kleinen Gasmenge vermutlich etwas zu gering. — † Blutkörperchen abzentrifugiert.

Sehen wir ab von den beiden vermutlich etwas zu niedrigen Werten 2b und 5a, sowie von den beiden Werten 11 und 12, von denen besonders der letztere ganz aus der Reihe fällt und nur aufgenommen wurde, weil ein Fehler in der Analyse nicht nachzuweisen war, so ergibt sich das Sauerstoffbindungsvermögen des luftgesättigten Octopusblutes zu 4,2 bis 5,0 Vol.-%.

Versuch 4 zeigt, daß der Zusatz von Borsäure für die Gewinnung des Sauerstoffs belanglos ist; aus Versuch 5b, 6

und 8 geht hervor, daß die weißen Blutkörperchen für die Sauerstoffbindung im Blute keine Bedeutung besitzen.

Die Stickstoffwerte schwanken zwischen 0,69 und 1,95 %. Die der letzteren Grenze sich nähernden Werte sind zweifellos zu hoch und vermutlich durch Beimengung kleinster Luftmengen zu erklären; eine dementsprechende Korrektur der Sauerstoffwerte (die übrigens selbst in den extremen Fällen 0,1 % kaum übersteigen würde) ist jedoch nicht durchführbar, da die Bestimmung des Stickstoffs, wie erwähnt, die größten Fehler aufweist, denen keine solchen der Sauerstoffbestimmung zu entsprechen brauchen. Jedenfalls ist kein Grund vorhanden, den Stickstoff anders als einfach gelöst anzunehmen. Die Kohlensäurewerte des luftgesättigten Blutes bieten kein besonderes Interesse; sie zeigen begreiflicherweise große Verschiedenheiten, die teils von dem ursprünglichen Kohlensäuregehalt, teils von der Dauer der Luftsättigung und den sonstigen Diffusionsbedingungen abhängen.

Vergleichen wir die von uns für das Sauerstoffbindungsvermögen des luftgesättigten Octopusblutes gefundenen Werte mit den bereits vorliegenden Angaben von Griffiths und Henze, so ergibt sich, daß die letzteren mit den unsrigen annähernd übereinstimmen; sie sind im Mittel um etwa 1 % niedriger, vielleicht eine Folge der für diesen Zweck nicht zureichenden Genauigkeit der von ihm verwendeten Methodik, die sich auch aus dem einen viel zu hohen Stickstoffwert (3,58 %) ergibt. Völlig unerfindlich hingegen ist, wie Griffiths zu seinen um rund 9 % zu hohen Werten (13,28 bis 13,65 %!) gelangen konnte. Ich habe, um zu sehen, ob sie überhaupt auf irgendwelche Weise erklärbar wären, in zwei Versuchen das Blut statt mit Luft mit einem mehr als 90 % Sauerstoff enthaltenden Gasgemisch gesättigt. Die Analyse der Blutgase ergab 6,35 bzw. 6,69 % Sauerstoff, also Werte, die durch die (dem rund 4 1/2 mal so hohen Sauerstoffdruck entsprechende) Mehrabsorption von physikalisch gelöstem Sauerstoff hinreichend erklärbar sind. Da Griffiths seine Werte an dem direkt aus dem Tiere entnommenen Blute erhalten haben will, so soll ihre weitere Erörterung bis nach Besprechung der diesbezüglich von uns gewonnenen Resultate verschoben werden.

b) Der Gasgehalt des Blutes im lebenden Tier.

Die direkte Entnahme des Blutes aus den Gefäßen unter Luftabschluß bietet bei Octopus keine besonderen Schwierigkeiten. Die Entnahme des arteriellen Blutes erfolgt in der oben angegebenen Weise aus der großen Dorsalarterie. Man muß nur die Vorsichtsmaßregel beobachten, das am Brett befestigte Tier vor oder nach Freilegung des Gefäßes in ein flaches mit Seewasser gefülltes Bassin zu bringen, um jede Asphyxie zu vermeiden bzw. wieder zu beseitigen. Dann wird die Kanüle eingebunden, mit dem mit Quecksilber gefüllten Meßrohr in Verbindung gesetzt und nach völliger Erfüllung aller Verbindungsröhren das Blut in das Meßrohr eingesaugt. Die Entnahme des venösen Blutes erfolgt am besten aus der mächtigen, bei größeren Exemplaren bis kleinfingerbreiten Abdominalvene. Wenn man die den Mantel mit dem Ausatmungstrichter verbindende Muskelbrücke durchschneidet, kann man das ganze Tier handschuhartig umkrempeln und so die Eingeweide freilegen. Dieses Verfahren (das ich in meinem ersten Versuche [Nr. 11, s. u.] angewendet habe) ist jedoch nicht zu empfehlen, weil hierdurch die Atmungsmechanik völlig aufgehoben und so auch in gut erneuertem Wasser Asphyxie erzeugt wird. Es ist zweckmäßiger, zur Seite dieser Muskelbrücke und mehr nach der Mantelspitze zu einen Längsschnitt durch den Mantel zu führen und in diesem Spalt die Vene aufzusuchen. Hat man sie gefunden und freigelegt, was trotz ihrer Größe wegen der fast völligen Farblosigkeit des venösen Blutes und der leichten Zerreißbarkeit der Venenwandung nicht immer ganz leicht ist, so unterbindet man die Vene, worauf sie sogleich stark anschwillt und nun leicht das Einbinden einer Kanüle ermöglicht, aus der das Blut unter Druck ausströmt und im Meßrohr über Quecksilber aufgefangen wird. War der Verlust an venösem Blut kein zu großer, so kann auch von demselben Tier noch eine Probe arteriellen Blutes in der gewöhnlichen Weise entnommen werden. Die Atmungsmechanik geht auch nach Ausführung eines Einschnittes an der ventralen und dorsalen Seite in ausreichendem Maße von statten.

Bereits der Vergleich der Farbe des tief dunkelblauen arteriellen und des nur leicht bläulich schimmernden venösen

Blutes zeigt, daß hier eine sehr beträchtliche Differenz des Sauerstoffgehaltes vorliegen muß. Die Analyse der Blutgase lehrt in der Tat, daß das arterielle Blut für den herrschenden Sauerstoffdruck fast völlig gesättigt ist, während das venöse fast seinen ganzen Sauerstoff eingebüßt hat.

Die erste der folgenden drei Tabellen gibt die Resultate dreier Versuche, in welchen der Gasgehalt des arteriellen und dann des gleichen Blutes nach Sättigung mit Luft bestimmt wurde:

Nummer des Versuches	100 Teile arteriellen Blutes enthalten:			100 Teile desselben Blutes mit Luft gesättigt enthalten:		
	CO_2	O_2	N_2	CO_2	O_2	N_2
8	6,31	4,70	1,48	3,87	4,94	1,61
9	7,09	4,66	1,74	3,14*	4,97*	1,79*
17	3,94	4,64	1,67	1,82	4,85	1,36

* Mittel aus zwei Analysen.

Wie diese Versuche zeigen, beträgt die Differenz zwischen dem Sauerstoffgehalt des arteriellen und des luftgesättigten Blutes nur 0,2 bis 0,3 %.

Die nächste Tabelle gibt den Gasgehalt des venösen Blutes in drei Versuchen:

Nummer des Versuches	100 Teile venösen Blutes enthalten:		
	CO_2	O_2	N_2
11	5,62	0,00*	1,60
12	9,13	0,31	1,31
16	7,83	0,26	0,96

* Tier umgekrempelt (s. o.) und infolgedessen etwas asphyktisch.

In zwei Versuchen schließlich wurde bei demselben Tier der Gasgehalt des arteriellen und des venösen Blutes bestimmt. Leider ist jedoch in dem einen Versuche durch ein Versehen die Bestimmung des Sauerstoffs unterblieben, dessen Wert nur annäherungsweise aus dem Gesamt-(O + N-) Wert zu entnehmen ist:

Nummer des Versuches	100 Teile arteriellen Blutes enthalten:			100 Teile venösen Blutes des gleichen Tieres enthalten:		
	CO_2	O_2	N_2	CO_2	O_2	N_2
15	2,37	ca. 4	ca. 1	7,74	0,93	0,96
		5,29				
17	3,94	4,64	1,67	6,56	0,40	1,09

Aus der Gesamtheit der angeführten Resultate ergibt sich, daß wir dem Hämocyanin in der Tat eine dem Hämoglobin der Wirbeltiere entsprechende Funktion eines Transportmittels für den Sauerstoff zuschreiben dürfen, wenigstens bei den Octopoden; denn das venöse Blut, das in den Geweben den größten Teil seines Sauerstoffs verloren hat, belädt sich in den Kiemen aufs neue mit Sauerstoff, den es wieder den Geweben zuführt. Die Versuche zeigen zugleich die außerordentliche Vollkommenheit des Atmungsapparates der Octopoden, der bei einem Durchgange des Blutes den Sauerstoffgehalt von einem minimalen Wert bis zu der dem umgebenden Sauerstoffdruck fast völlig entsprechenden Höhe[1]) zu treiben vermag. Diese Vollkommenheit tritt auch schon in dem anatomischen Bau des Respirationsapparates zutage, der an Kompliziertheit kaum von einem anderen Wasseratmungsorgan übertroffen wird, und mit seinen bis zu Kiemenlamellen 7. Ordnung fortschreitenden Verzweigungen[2]) eine respiratorische Oberfläche von ungewöhnlicher Größe darstellt, deren Wirksamkeit noch durch eine vortreffliche Atmungsmechanik unterstützt wird.

Eine weitere bemerkenswerte Tatsache ist der im Vergleich zum Säugetierblut auffällig niedrige Kohlensäuregehalt sowohl des arteriellen wie des venösen Blutes; auf die Diskussion dieser Erscheinung soll erst später im Zusammenhang eingegangen werden.

Was nun nochmals die Angaben von Griffiths anlangt, der im arteriellen Blute von Octopus vulgaris 13,28 bis 13,65 % O_2

[1]) Die zwischen dem O_2-Gehalt des der Arterie entnommenen und des mit Luft gesättigten Blutes beobachtete Differenz von 0,2 bis 0,3 % erfährt in Wirklichkeit noch eine Verminderung, da das Seewasser der Aquarien nicht ganz vollständig mit Luft gesättigt ist.

[2]) Vgl. L. Joubin, Structure et développement de la branchie de quelques Céphalopodes. Arch. de Zool. expér., 2. sér., 3, 75, 1885.

und 30,23 bis 31,29 % CO_2 gefunden haben will, so wird ihre völlige Haltlosigkeit durch die vorangehenden Versuche aufs neue dargetan. Nicht bloß die O_2-Werte sind, wie schon erwähnt, um etwa 9 %, auch die CO_2-Werte sind um mehr als 20 % zu hoch. Es gibt keine Fehlerquelle, welche solche Differenzen erklären, keine Fehlerquelle, welche bei richtigen Stickstoffwerten um das vielfache zu hohe Sauerstoff- und Kohlensäurewerte liefern könnte. So bleibt nur die Schlußfolgerung übrig, daß die Angaben von Griffiths jeder tatsächlichen Grundlage entbehren und reine Phantasieprodukte darstellen. Begreiflicherweise nur zögernd habe ich mich zur Annahme eines solchen Sachverhaltes entschlossen, der wohl eine selbst auf vergleichend-physiologischem Gebiete recht ungewöhnliche Erscheinung darstellt; aber jeder weitere Versuch hat nur eine Bestätigung dafür gebracht, daß die obige Deutung die einzig mögliche ist.

B. Palinurus vulgaris.

An der Languste habe ich nur wenige Versuche angestellt. Die große Intensität und Schnelligkeit, mit der hier die Gerinnung des Blutes eintritt, ist bei den Experimenten sehr hinderlich. In zwei Versuchen wurde das Sauerstoffbindungsvermögen des luftgesättigten Blutes untersucht; das Blut wurde aus einer durchschnittenen Extremität je einer Languste in einem Meßgefäß aufgefangen, das zur Verhinderung der Gerinnung mit 15 % Kaliumoxalat beschickt war (1 Teil der Lösung auf je 10 Teile Blut). Das luftgesättigte Blut zeigte nur einen bläulichen Schimmer, ein Beweis, daß der Gehalt an Hämocyanin nur gering war. Die sehr gut übereinstimmenden Analysen der Blutgase ergaben in den beiden Versuchen den folgenden Gasgehalt für 100 Teile Blut:

Nr. des Versuches	CO_2	O_2	N_2
18a	6,35	1,48	1,17
19	6,32	1,43	1,38

Ein Versuch (18b), bei einem dritten Exemplare den Gasgehalt des Blutes im lebenden Tier zu bestimmen, gelang nur unvollständig, weil das direkt aus der durchschnittenen Extre-

mität über Quecksilber aufgefangene Blut in der engen Meßröhre trotz des Zusatzes von Kaliumoxalat zum Teil gerann, so daß eine genaue Bestimmung der untersuchten Blutmenge nicht möglich war. Es wurden beiläufig $3^1/_2$ ccm Blut ausgepumpt, woraus sich der Gasgehalt zu ca. 6% CO_2 und 1% O_2 berechnete.

C. Maja squinado.

Das Blut von Maja zeigt auch nach Luftsättigung nur einen schwach bläulichen Schimmer; der sehr geringe Gehalt an Hämocyanin wird noch verdeckt durch die Anwesenheit eines zweiten (nicht respiratorischen) Pigments, des sogenannten „Tetronerythrins“, das dem ziemlich farblos ausfließenden Blut beim Stehen an der Luft einen rötlich-orangenen Farbenton verleiht. Zur Entnahme des Blutes[1]) pflegt man sich einer Extremität zu bedienen, deren letztes Glied man durchschneidet. Hat man genügende Blutmengen erhalten oder hat der Blutausfluß aufgehört, so veranlaßt man durch einen weiteren, durch das zweite Glied geführten Schnitt die Autotomie dieser Extremität, wodurch das Tier vor dem Verbluten geschützt wird. Ich habe jedoch gefunden, daß es ein viel bequemeres Verfahren ist, das Blut direkt aus dem Perikardialsinus zu entnehmen. Die Umgrenzung des letzteren ist am Rückenpanzer durch eine seichte lyraförmige Furche ausgeprägt. Innerhalb dieser bohrt man mit einem spitzen Instrument eine Öffnung, gerade so groß, daß sie die Einführung der Glaskanüle gestattet, und aspiriert dann das Blut, das durch Heberwirkung oder durch Ansaugen mit Quecksilber sehr rasch in großen Mengen gewonnen werden kann. Nach beendigter Blutentnahme wird die Öffnung durch etwas Wachs wieder verschlossen; eine Schädigung des Tieres ist hiermit in keiner Weise verbunden.

Die Untersuchung des direkt aus dem Perikardialsinus über Quecksilber aufgefangenen Blutes, das im folgenden als „Perikardblut“ bezeichnet wird, und des gleichfalls aus dem Perikardialsinus oder aus einer Extremität aufgefangenen mit Luft gesättigten Blutes des gleichen Tieres ergab die folgenden Resultate:

---

[1]) Das Blut von Maja gerinnt nicht.

Nummer des Versuches	100 Teile Perikardblut enthalten:			100 Teile luftgesättigten Blutes desselben Tieres enthalten:		
	CO_2	O_2	N_2	CO_2	O_2	N_2
10 a	—	—	—	24,20	1,13	0,60
10 b	—	—	—	24,19	1,10	1,17
13	23,62	0,44	1,21	18,02	0,95	1,12
20	13,68	0,76*	1,76*	10,83	0,91	1.47
21	26,57	0,52	1,53	27,20**	0,84	1,43

* Durch Eindringen eines Luftbläschens etwas zu hoch.

** Die Probe ist zu einer Zeit entnommen, in der der CO_2-Gehalt des Blutes angestiegen war (s. u.).

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß das Sauerstoffbindungsvermögen des Majablutes ein sehr geringes ist, $1^1/_2$ bis höchstens 2mal so groß als das des Seewassers. Auch dieser Sättigungsgrad aber wird normalerweise offenbar nicht erreicht, wie die Untersuchung des Sauerstoffgehaltes des Perikardblutes lehrt, das wir mit als das bestarterialisierte des Körpers auffassen dürfen, weil die aus den Kiemen kommenden Venen im Perikardialsinus zusammenfließen.

Es ist bekannt, daß viele Decapoden recht lange den Aufenthalt im Trockenen ertragen können; auch bei Maja ist dies der Fall. Es schien mir von Interesse, die Veränderungen des Gasgehaltes während eines fortgesetzten Landaufenthaltes zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurde die Maja des Versuches 21, deren Perikardblut bei gewöhnlicher Wasseratmung einen O_2-Gehalt von 0,52 % und einen CO_2-Gehalt von 26,57 % gezeigt hatte, in ein Gefäß gebracht, dessen Boden nur leicht mit Wasser überdeckt war, so daß das Tier, vor Vertrocknung geschützt, sich doch völlig außerhalb des Wassers befand und lediglich auf Luftatmung angewiesen war. Die Untersuchung des Gasgehaltes des Perikardblutes nach 2stündigem Landaufenthalt ergab einen O_2-Gehalt von 0,37 % und einen CO_2-Gehalt von 31,09 % und nach weiteren 6 Stunden einen O_2-Gehalt von 0,31 % und einen CO_2-Gehalt von 33,15 %. (Der N_2-Gehalt zeigte keine nennenswerte Veränderung: 1,53, 1,42, 1,38 %.) Bei der letzten Blutentnahme war das Tier bereits sehr matt, und $1^1/_2$ Stunden später ($9^1/_2$ Stunden nach Beginn des Landaufenthaltes) war es völlig reaktionslos und wurde ins Wasser zurückgebracht, wo im Verlaufe weniger Minuten eine

deutliche Erholung eintrat; am nächsten Morgen war das Tier jedoch tot.

Aus den gewonnenen Daten ergibt sich, daß der Sauerstoffgehalt des Blutes nach Verlauf von 2 Stunden etwas abgesunken war, während der folgenden Zeit aber sich auf dem allerdings niedrigeren Niveau konstant erhielt. Der Kohlensäuregehalt hingegen zeigte innerhalb der ersten 2 Stunden einen mächtigen Anstieg, der, wenn auch in stark vermindertem Maße, in der Folge noch zunahm. Aus diesem Verhalten scheint hervorzugehen, daß die Luftatmung nicht so sehr für die O_2-Aufnahme, als für die CO_2-Ausscheidung sich unzureichend erweist, welch letztere im Wasser offenbar viel vollkommener vor sich geht, eine Erscheinung, auf deren Deutung wir später noch zurückkommen werden.

Für das Sauerstoffbindungsvermögen des Crustaceenblutes haben, wie schon erwähnt, Jolyet und Regnard, allerdings an anderen Tierarten, nicht unbeträchtlich höhere Werte gefunden. Bei der großen Verschiedenheit, die der Eiweiß- und speziell auch der Hämocyaningehalt des Blutes der einzelnen Crustaceen anscheinend aufweist, ist kein Grund vorhanden, an der annähernden Richtigkeit dieser Angaben zu zweifeln, wenn auch die zum Teil viel zu hohen Stickstoffwerte (bis 2,7 %) auf eine unzureichende Genauigkeit der verwendeten Methodik hinzuweisen scheinen. Bezüglich der Angaben von Griffiths (der z. B. bei Palinurus einen O_2-Gehalt von über 14 % gefunden haben will) sei auf das oben Gesagte verwiesen, desgleichen bezüglich der zahlreichen auf titrimetrischem Wege gewonnenen Angaben der französischen Autoren.

Auffallend erscheint die (bei Maja beobachtete) große Unregelmäßigkeit des Kohlensäuregehaltes; schon Jolyet und Regnard, die im Crustaceenblute mitunter einen ungeheueren Gehalt an gebundener Kohlensäure beobachteten (bis zu 280 Vol.-%!), haben auf ihn hingewiesen und ihn mit der Ablagerung von kohlensaurem Kalk in Zusammenhang gebracht.

2. Hämoglobinhaltiges Blut.

Neben dem Hämocyanin ist bei den Wirbellosen das Hämoglobin der am weitesten verbreitete respiratorische Farbstoff, besonders bei den Anneliden und Lamellibranchiern. Über den

Gasgehalt hämoglobinhaltigen Blutes wirbelloser Tiere liegen nur Angaben von Griffiths[1]) vor, der bei verschiedenen Würmern einen mittleren O_2-Gehalt von 12 bis 13°/₀ (und CO_2-Gehalt von 28 bis 30°/₀) gefunden haben will, sowie eine Angabe von Dhéré[2]), nach welcher das Blut von Planorbis 2°/₀ O_2 zu binden vermag. Die Irrealität der Griffithsschen Analysen folgt mit großer Wahrscheinlichkeit schon aus der Betrachtung der Tiere, an deren Blut sie angestellt sein sollen. Denn bei der Kleinheit der Verhältnisse ist es begreiflicherweise sehr schwierig, die zur Ausführung einer Analyse erforderlichen Blutmengen zu gewinnen. Unter den Anneliden scheinen am ehesten die Glyceriden hierzu geeignet, bei denen die hämoglobinhaltige Blutkörperchen führende Leibeshöhlenflüssigkeit die Rolle des Blutes übernommen hat, das eines Gefäßsystemes hier völlig entbehrt. Ich habe mich daher bei den Anneliden auf Glycera siphonostoma beschränkt und in zwei Versuchen die Leibeshöhlenflüssigkeit von je 12 Exemplaren untersucht, die durch wiederholtes Einstechen einer in eine Capillare ausgezogenen Glaskanüle gewonnen wurde. Da die Blutkörperchen jedoch oft schon im lebenden Tier zu Klumpen vereinigt erscheinen und in noch stärkerem Maße außerhalb des Körpers solche bilden, so ist sowohl bei der Entnahme wie bei der Überführung des Blutes in die Pumpe eine ganz ungleiche Verteilung des Blutfarbstoffes nicht zu vermeiden, wodurch die Messung natürlich sehr an Genauigkeit einbüßt, die auch durch die geringen Flüssigkeitsmengen, die für die Auspumpung zur Verfügung standen (1,2 bzw. 1,5 ccm), ungünstig beeinflußt wurde. Die gewonnenen Zahlen können daher nur über die Größenordnung des Sauerstoffbindungsvermögens der mit Luft gesättigten Cölomflüssigkeit orientieren, deren Hämoglobingehalt übrigens — der verschiedenen Farbe der Tiere nach zu schließen — bei den einzelnen Individuen sehr verschieden zu sein scheint.

Der Gasgehalt ergab sich für 100 Teile Leibeshöhlenflüssigkeit wie folgt:

---

[1]) Griffiths, a. a. O. 19, 116.

[2]) Dhéré, zitiert nach F. Müller, Die respiratorischen Farbstoffe. Handb. d. Biochemie 1, 681, 1909.

Nr. des Versuches	CO_2	O_2	N_2
32	5,02	3,03	1,43
42	6,17	2,58	1,41

Darnach beträgt das Sauerstoffbindungsvermögen bei Glycera etwa $2^1/_2$ bis $3\,^0/_0$ (nach Griffiths $12{,}87\,^0/_0$!).

Von Lemellibranchiern habe ich Cardita sulcata und Pectunculus violaceus untersucht. Das Blut wurde nach gewaltsamer Eröffnung der Schale durch Zerstörung der Kiemenlamellen gewonnen. Hierbei ist jedoch eine Verunreinigung mit dem diesen anhaftenden Seewasser nicht zu vermeiden; so kam es, daß der Sauerstoffgehalt um so größer gefunden wurde, je weniger Exemplare zu einem Versuche verwendet wurden; alle Werte sind demgemäß als etwas zu niedrig zu betrachten. Das Hämoglobin ist hier im Plasma gelöst. Der Gasgehalt ergab sich für 100 Teile luftgesättigten Blutes wie folgt:

Nr. des Versuches	Versuchstiere	CO_2	O_2	N_2
34	6 Cardita	4,80	0,94	0,84
33	5 „	4,38	1,12	0,92
37	3 Pectunculus	7,71	0,71	1,25
38	2 „	7,27	0,92	1,13
41	1 „	7,57	1,12	1,06

Das Sauerstoffbindungsvermögen des untersuchten Lamellibranchierblutes beträgt demnach (unter Berücksichtigung der Verdünnung mit Seewasser) zwischen 1 und $2\,^0/_0$. Dieser Wert erscheint ebenso wie der etwas größere des Glycerablutes für eine hämoglobinhaltige Flüssigkeit sehr gering. Es wäre von Interesse, die auf Eisen bezogene Sauerstoffkapazität des Hämoglobins der Wirbellosen mit der der Wirbeltiere zu vergleichen. Die so geringe Größe des Sauerstoffbindungsvermögens in den obigen Versuchen ist jedoch zweifellos der Hauptsache nach durch den geringen Gehalt an Hämoglobin bedingt, denn das Blut von Cardita wie von Pectunculus erscheint als eine ganz dünne Hämoglobinlösung, so daß es ohne weitere Verdünnung zur spektroskopischen Untersuchung verwendet werden kann.

3. Hämerythrinhaltiges Blut.

Der von Krukenberg[1]) als Hämerythrin bezeichnete respiratorische Farbstoff ist von Schwalbe[2]) bei Phascolosoma entdeckt und von Krukenberg[1]) an Sipunculus nudus genauer untersucht worden. Neuerdings will ihn Benham[3]) auch bei einem zu den Anneliden gehörigen Wurm, Magelona, gefunden haben. Über das Sauerstoffbindungsvermögen hämerythrinhaltiger Körperflüssigkeiten liegt wieder nur eine Angabe von Griffiths[4]) vor, der in 100 Teilen Sipunculusblut 12,31 % Sauerstoff (und 28,29 % Kohlensäure) gefunden haben will, eine Zahl, die, wie wir gleich sehen werden, ebensowenig der Wirklichkeit entspricht wie alle übrigen.

Bei Sipunculus nudus, an dem auch die folgenden Untersuchungen angestellt sind, findet sich das Hämerythrin gebunden an geformte Elemente, die in großer Zahl in der Leibeshöhlenflüssigkeit suspendiert sind. Um diese zu gewinnen, braucht man nur den Hautmuskelschlauch des sorgfältig abgetrockneten Tieres an einer Stelle aufzuschneiden, wobei man sich jedoch vor einer Verletzung des sogleich vorspringenden überaus zarten Darmes zu hüten hat. Unter dem Einfluß der heftigen Kontraktionen des Hautmuskelschlauches spritzt die Leibeshöhlenflüssigkeit zuerst mit großer Gewalt hervor. Beim Ausfließen meist rosa gefärbt, nimmt sie unter dem Einfluß des Sauerstoffs der Luft alsbald eine braunrote Färbung an. Zentrifugiert man diese Flüssigkeit, so setzen sich die verschiedenen geformten Bestandteile in mehreren Schichten ab, und es bleibt ein völlig klares, farbloses Plasma übrig, dessen Sauerstoffbindungsvermögen das des Seewassers nicht übersteigt. Der Gasgehalt der mit Luft gesättigten Leibeshöhlenflüssigkeit von je einem, im dritten Versuche von zwei Exemplaren ergab sich für 100 Teile wie folgt:

---

[1]) I. Krukenberg, Vergl.-physiol. Beiträge zur Kenntnis d. Respirationsvorgänge bei wirbellosen Tieren. Vergl.-physiol. Studien, 1. Reihe, 3. Abteil., S. 82. 1880.

[2]) G. Schwalbe, Kleinere Mitteilungen zur Histologie wirbelloser Tiere. Arch. f. mikrosk. Anat. 5, 248, 1869.

[3]) W. B. Benham, The blood of Magelona, Quart. Journ. of microsc. Science, 39, 1, 1896/7.

[4]) Griffiths, a. a. O., 19, 116.

Nr. des Versuches	CO_2	O_2	N_2	Bemerkungen
22	5,71	1,85	1,77	1 Tag im Aquarium
23	7,19	2,27	1,40	1 „ „ „
26	13,84	2,09	1,37	längere Zeit im Aquarium

Die Analyse des abzentrifugierten Plasmas der Leibeshöhlenflüssigkeit von Versuch 26 ergab nach Luftsättigung: CO_2: 15,06 %, O_2: 0,47 %, N_2: 1,41 %.

Das Sauerstoffbindungsvermögen der mit Luft gesättigten hämerythrinhaltigen Leibeshöhlenflüssigkeit beträgt also im Mittel etwa 2 %.

Es ist mir nicht gelungen, den Gasgehalt der Leibeshöhlenflüssigkeit des lebenden Tieres unter normalen Bedingungen zu untersuchen. Ein jeder Eingriff ruft eine so gewaltsame Kontraktion des Hautmuskelschlauches hervor, daß jede Kanüle durch die vordringenden Eingeweide verstopft wird. Ich habe daher nur eine Analyse der Leibeshöhlenflüssigkeit von drei Exemplaren ausgeführt, die durch Zusatz von etwas absolutem Alkohol zum Seewasser (im Verhältnis von etwa 1 : 10) schwach narkotisiert worden waren. Die Entnahme der Leibeshöhlenflüssigkeit erfolgte durch eine Pipette, deren Spitze durch einen Einschnitt im hinteren Körperende eingeführt wurde; völliger Luftabschluß war auch hier nicht vorhanden, so daß der erhaltene Sauerstoffwert noch etwas zu hoch sein kann. Die Analyse der aus diesen Leibeshöhlenflüssigkeiten gewonnenen Gase ergab:

CO_2: 17,80 % O_2: 0,53 % N_2: 1,11 %

Die Untersuchung der gleichen Flüssigkeit nach Luftsättigung ergab:

CO_2: 13,97 % O_2: 1,76 % N_2: 1,06 %

Die Leibeshöhlenflüssigkeit ist also, soweit dieser Versuch einen Schluß zuläßt, nur zum Teil mit Sauerstoff gesättigt; es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die aus der Leibeshöhle gewonnene Flüssigkeit ein Gemisch von arterialisiertem und venös gewordenem Blute darstellt, da gesonderte Blutbahnen (abgesehen von dem unbeträchtlichen Gefäßsystem der Tentakel) hier nicht existieren. Auffällig ist die beträchtliche Differenz des Kohlensäuregehaltes der verschiedenen Cölomflüssigkeiten,

die mit dem Aufenthalt der Tiere in Zusammenhang zu stehen scheint, da die beiden frisch gefangenen Exemplare (Vers. 22 und 23) einen sehr geringen, die anderen, längere Zeit in Gefangenschaft gehaltenen, einen viel beträchtlicheren CO_2-Gehalt aufwiesen.

4. Verschiedene Körperflüssigkeiten, welche angeblich respiratorische Proteide enthalten.

a) Chlorocruorin.

Der grüne Farbstoff des Blutes mancher Anneliden ist von Lankester[1]) genauer untersucht worden. Er fand, daß er in zwei Modifikationen, einer oxydierten und einer reduzierten, existiert, die durch charakteristische Spektren ausgezeichnet sind und in ihrem spektroskopischen Verhalten eine Verwandtschaft mit dem Hämoglobin zeigen. Er schrieb diesem als Chlorocruorin bezeichneten Farbstoff auch eine dem Hämoglobin entsprechende Funktion zu, eine Anschauung, deren Berechtigung von Krukenberg[2]) bezweifelt wurde. Griffiths[3]), der den Farbstoff gleichfalls als respiratorischen betrachtete, behauptete, im Blute von Sabella und Serpula etwas über 12°/₀ Sauerstoff gefunden zu haben. Ich war nicht so glücklich wie Griffiths, der aus diesen kleinen Würmern eine zur Gasanalyse ausreichende Blutmenge gewonnen haben will; ich konnte bei Verwendung der großen Spirographis durch Abschneiden der Kopfkiemen (ein von Krukenberg[4]) zur Gewinnung reinen Blutes empfohlenes Verfahren) von 11 Exemplaren nur wenig über $^1/_2$ ccm Blut gewinnen und habe daher auf eine Analyse verzichten müssen.

b) Echinochrom.

Mac Munn[5]) hat in der Periviseeralflüssigkeit verschiedener Echinodermen (Sphaerechinus, Stongylocentrotus u. a.)

---

1) E. Ray Lankester, Abstract of a report on the spectroscopic examination of certain animal substances. Journ. of Anat. and Physiol. 4, 119, 1869.

2) I. Krukenberg, Zur vergl. Physiol. d. Lymphe, d. Hydro- und Hämolymphe. Vergl.-physiol. Studien, 2. Reihe, 1. Abt., S. 87, 1882.

3) Griffiths, a. a. O.

4) Krukenberg, Vergl.-physiol. Beitr. z. Kenntnis d. Respirationsvorgänge usw. Vergl.-physiol. Studien, 1. Reihe, 3. Abt., S. 79, 1880.

5) C. A. Mac Munn, On the chromatology of the blood of some invertebrates. Quart. Journ. of microsc. science 25, 469, 1885.

einen Farbstoff beschrieben, der den geformten Bestandteilen anhaftet, die sich außerhalb des Körpers zu fädigen Gebilden agglutinieren (sogenannte „Gerinnung"), und beim Stehen an der Luft eine dunkle rötlich-braune Farbe annehmen. In dieser oxydierten Form zeigt der extrahierte Farbstoff ein charakteristisches Spektrum. Mac Munn hat diesen Farbstoff, mit dem auch die von anderen Autoren bei verschiedenen Echinodermen zum Teil als Hämoglobin beschriebenen Pigmente identisch zu sein scheinen, als Echinochrom bezeichnet und ihm eine respiratorische Funktion im Sinne des Hämoglobins zugeschrieben, eine Ansicht, der auch Griffiths[1]) beigepflichtet hat. Um ihre Berechtigung zu prüfen, habe ich einige Analysen der mit Luft gesättigten Perivisceralflüssigkeit von Sphaerechinus granularis und Strongylocentrotus lividus ausgeführt; der Gasgehalt ergab sich für 100 Teile wie folgt:

Nr. des Versuches	Tierart	CO_2	O_2	N_2
27 a	1 Sphaerechinus	7,34	0,63	1,16
27 b		7,18	0,53	1,08
28	1 Strongylocentrotus	9,48	0,52	1,06
29	2 "	7,42	0,57	1,01

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß das Sauerstoffbindungsvermögen nicht größer ist als das des Seewassers, und daß somit die Annahme einer respiratorischen Bedeutung der Perivisceralflüssigkeit jeder Begründung entbehrt.

c) „Pinnaglobin" und „Achroglobine".

Aus dem Blute von Pinna squamosa will Griffiths[2]) ein manganhaltiges, von ihm als Pinnaglobin bezeichnetes Proteid dargestellt haben, von welchem 100 g 162 ccm Sauerstoff sollen binden können. Eine Reihe anderer farbloser Proteide, „Achroglobine", will Griffiths[3]) ferner aus dem Blute verschiedener Mollusken (darunter Patella) und Tunicaten (darunter Ascidia

[1]) Griffiths, Sur l'échinochrome, un pigment respiratoire. Compt. rend. de l'Acad. 115, 419, 1892.

[2]) Griffiths, Sur la composition de la pinnaglobine, une nouvelle globuline. Compt. rend. de l'Acad. 114, 840, 1892.

[3]) Griffiths, s. Compt. rend de l'Acad. 115, 259, 474, 738, 1892; 116, 1206, 1893.

mammillata) dargestellt haben. Sie alle sollen die wunderbare Fähigkeit besitzen, Sauerstoff zum Teil in noch höherem Maße binden zu können als das Hämoglobin (120 bis 150 ccm pro 100 g), manche nebenbei auch noch große Mengen von Kohlensäure (z. B. das Achroglobin von Patella 315 ccm pro 100 g!).

Da das Vorhandensein dieser respiratorischen Proteide naturgemäß auch in dem Gasgehalt der betreffenden Körperflüssigkeiten zum Ausdruck kommen müßte, so habe ich diesen bei einigen der von Griffiths erwähnten Tierarten untersucht, und zwar bei Pinna (nobilis), Ascidia mammillata und Patella (coerulea). Das Blut der großen Steckmuscheln ist leicht zu gewinnen; man braucht nur das Tier nach teilweiser Eröffnung der Schale gewaltsam herauszuziehen, und erhält durch Zerreißung der zarten Herzwand eine ansehnliche Menge des braunroten Blutes. Nach vorsichtiger Eröffnung der Schale von der Rückseite kann man das Blut auch direkt aus dem Herzen oder dem von ihm abgehenden großen Gefäß entnehmen. — Bei Ascidia mammillata soll man nach Harless[1]) durch einfaches Einschneiden in den dicken Mantel Blut erhalten. Ich habe dies nie vermocht; erst wenn man an der der Exspirationsöffnung gegenüberliegenden Seite nahe der Basis den Mantel vollkommen durchschneidet, fließt eine größere Menge Flüssigkeit aus, die reich ist an geformten Bestandteilen, die nach mehrstündigem Stehen eine blauschwarze Färbung annehmen (die Angabe von Harless, daß Einleiten von Kohlensäure Blaufärbung hervorruft, eine Beobachtung, die auch Krukenberg[2]) gemacht haben will, konnte ich daraus nicht bestätigen). — Die Gewinnung des Blutes von Patella ist mühsam; man erhält einige Tröpfchen durch mehrfaches Durchschneiden des zirkulären, die kranzförmigen Kiemen begleitenden Gefäßes.[3]) — Die Analyse dieser mit Luft gesättigten Flüssigkeiten ergab für 100 Teile den folgenden Gasgehalt:

---

[1]) Harless, Über das blaue Blut einiger wirbelloser Tiere und dessen Kupfergehalt. Müllers Archiv. 1847, 148.

[2]) Krukenberg, Vergl.-physiol. Beitr. z. Kenntnis d. Respirationsvorgänge usw. Vergl.-physiol. Studien, 1. Reihe, 3. Abt., S. 100, 1880.

[3]) Die Gewinnung des Blutes von Patella gibt ein drastisches Beispiel für die Glaubwürdigkeit der Griffithsschen Angaben: von 36 Exemplaren habe ich im Verlaufe von mehr als 1 Stunde $7^1/_2$ ccm

Nr. des Versuches	Tierart	CO_2	O_2	N_2
35	1 Ascidia	0,24	0,38	1,33
36	1 „	0,29	0,48	1,04
40	2 Pinna	5,12	0,57	0,90
39	36 Patella	12,57	0,68	1,11

Diese Zusammenstellung zeigt, daß in keinem einzigen Falle der Sauerstoffgehalt der untersuchten Flüssigkeiten ein derartiger war, daß er die Annahme einer besonderen chemischen Bindung erfordern würde.[1]) Selbst wenn also wirklich irgendwelche „Achroglobine" von Griffiths existieren sollten (was man wohl als höchst unwahrscheinlich betrachten darf), könnten sie bei dem Transport des Sauerstoffs und der Kohlensäure keine Rolle spielen. (Erwähnt sei, daß auch Griffiths[2]) den Gasgehalt des Blutes von Patella untersucht und 12 bis 13°/₀ O_2 und 31 bis 32°/₀ CO_2 gefunden haben will.)

Sehr auffällig ist der außerordentlich niedrige Kohlensäuregehalt der Ascidienflüssigkeit, doch bin ich leider nicht in der Lage gewesen, seiner Ursache nachzugehen.

Zusammenfassung und Schlußbetrachtungen.

Fassen wir die in den vorangehenden Untersuchungen gewonnenen Resultate zusammen, die natürlich nur Fragmente eines großen, mit exakten Methoden bisher kaum behandelten Arbeitsgebietes darstellen, so ergibt sich das folgende:

Die Fähigkeit, Sauerstoff in lockerer Bindung zu fixieren, wurde für die Hämocyanin, Hämoglobin und Hämerythrin enthaltenden Körperflüssigkeiten wirbelloser Seetiere festgestellt.

Blut gewinnen können. Welche ungeheure Materialmassen hätte Griffiths wohl verarbeiten und welche Zeit allein für die Gewinnung des Blutes verwenden müssen, um aus dieser sicher sehr eiweißarmen Flüssigkeit sein „Achroglobin" darstellen zu können (für das er — ebenso wie für alle anderen respiratorischen Proteide — natürlich auch die empirische Formel aufgestellt hat).

[1]) Der Sauerstoffgehalt bei Patella erscheint allerdings ein wenig höher als dem Absorptionsvermögen von Seewasser bei mittlerer Temperatur entsprechen würde, doch fällt die geringe Differenz (ca. 0,1°/₀) bei der minimalen Gesamtmenge des Sauerstoffs (33,5 cmm! s. Anhang) in das Bereich der Fehlergrenzen.

[2]) Griffiths, a. a. O., Proc. Roy. Soc. Edinborough, 19, 116.

Für das chlorocruorinhaltige Blut konnte die Frage nicht entschieden werden; für das Vorhandensein sonstiger respiratorischer Proteide haben sich keinerlei Anhaltspunkte ergeben. Das Sauerstoffbindungsvermögen des luftgesättigten hämocyaninhaltigen Blutes ergab sich bei Octopus zu 4,2 bis 5,0%, bei Palinurus zu rund $1\frac{1}{2}$%, bei Maja zu ca. 1%; das des hämoglobinhaltigen Blutes bei Glycera zu etwa $2\frac{1}{2}$ bis 3%, bei Cardita und Pectunculus zu etwa 1 bis 2%; das der hämerythrinhaltigen Leibeshöhlenflüssigkeit von Sipunculus zu rund 2%. Das Sauerstoffbindungsvermögen der übrigen untersuchten tierischen Flüssigkeiten (von Sphaerechinus, Strongylocentrotus, Ascidia, Pinna, Patella) erscheint durch physikalische Absorption erklärbar; das gleiche gilt für den Stickstoffgehalt in sämtlichen Versuchen.

Der direkte Nachweis einer der Rolle des Hämoglobins der höheren Tiere entsprechenden Funktion konnte nur für das hämocyaninhaltige Blut von Octopus erbracht werden. Hierbei ergab sich zugleich die hohe Vollkommenheit seines Atmungsapparates, der das seines Sauerstoffs zum größten Teile beraubte Blut bis zu der dem herrschenden Druck entsprechenden Höhe mit Sauerstoff sättigt. In den übrigen Fällen, in denen allerdings eine Sonderung des arteriellen und venösen Blutes nicht so scharf (Maja), oder gar nicht (Sipunculus) möglich ist, zeigte das direkt aus dem lebenden Tier entnommene Blut nur einen recht geringen Sauerstoffgehalt.

Die Frage nach der Ursache der scheinbar ganz regellosen Zerstreuung der respiratorischen Farbstoffe bei den Wirbellosen ist besonders bezüglich des Vorkommens des Hämoglobins mehrfach aufgeworfen worden. Lankester[1]), Cuénot[2]) und andere haben versucht, ein besonderes Sauerstoffbedürfnis oder besonders ungünstige Bedingungen der Sauerstoffversorgung zur Erklärung heranzuziehen. Allein in vielen Fällen erscheint dies gewaltsam und wenig befriedigend, und eine konsequente Durchführung dieses Erklärungsversuches begegnet sehr großen Schwierigkeiten. Sie werden erhöht durch die Feststellung, daß das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes wirbelloser

---

[1]) E. Ray Lankester, A contribution to the knowledge of haemoglobin. Proc. Roy. Soc. of London 21, 70, 1872/73.

[2]) L. Cuénot, a. a. O.

Tiere auch bei Anwesenheit respiratorischer Farbstoffe meist ein recht geringes ist, so daß man sich fragen muß, ob diese geringfügige Vermehrung der im Körper zirkulierenden Sauerstoffmenge überhaupt von nennenswerter Bedeutung sein kann. Es wäre vielleicht auch die Möglichkeit zu erwägen, ob diese sozusagen rein mechanische Funktion der Sauerstoffspeicherung und des Sauerstofftransportes wirklich die einzige oder die wesentlichste Aufgabe dieser respiratorischen Farbstoffe darstellt, oder ob sie vielleicht noch in anderer Weise an den im Organismus ablaufenden Prozessen Anteil nehmen. Doch scheint es müßig, diese Frage weiter zu erörtern, solange jede experimentelle Grundlage zu ihrer Beantwortung fehlt.

Eine bemerkenswerte Tatsache, die sich aus den vorangehenden Untersuchungen ergibt, ist die, daß der Kohlensäuregehalt des Blutes der Wirbellosen im Vergleich zu dem der Säugetiere meist ein außerordentlich geringer ist.[1]) Zwei Momente dürften für die Erklärung dieser Erscheinung in Betracht kommen. Das eine ist die relativ geringe Größe des Gaswechsels, die ebenso wie sie an die Sauerstoffkapazität des Blutes nur geringe Anforderungen stellt, auch nur ein geringes Kohlensäurebindungsvermögen erfordert, weil eben nur kleine Kohlensäuremengen zu transportieren sind. Ein zweites Moment aber dürfte in den besonders günstigen Bedingungen liegen, die bei den Seetieren für die Ausscheidung der Kohlensäure gegeben sind. Der unvollkommene Wechsel der Atmungsluft bedingt bei den Luftatmern das Vorhandensein eines nicht unbeträchtlichen Kohlensäuredrucks in der Atemhöhle, gegen welchen die Ausscheidung der Kohlensäure erfolgen muß. Bei den Wassertieren sind die Bedingungen für den Wechsel des respiratorischen Mediums in vielen Fällen günstiger, da die Atmungsorgane oft frei im Wasser flottieren, für dessen immerwährende Erneuerung endweder durch die Bewegungen der Atmungsorgane oder wenigstens durch einen Wimperstrom Sorge getragen wird, und da auch dort, wo eine Atemhöhle vorhanden ist, Ein- und Ausatmungsöffnung meist gesondert sind, wodurch die Entstehung

[1]) So kommt es, daß die Angaben von Griffiths, die offenbar in einer gewissen Analogie zu dem Verhalten des Säugetierblutes erfunden wurden, sich in den Kohlensäurewerten oft noch weiter von der Wirklichkeit entfernen als in den Sauerstoffwerten.

eines schädlichen Raumes verhindert wird. Der Hauptgrund für die Erleichterung der Kohlensäureabgabe aber ist physikalischer und chemischer Natur. Einmal liegt er in der großen Löslichkeit der Kohlensäure, welche bedingt, daß auch in reinem Wasser durch die Aufnahme relativ großer Kohlensäuremengen nur eine unbeträchtliche Erhöhung des Kohlensäuredruckes herbeigeführt wird,[1]) dann aber besonders in dem Umstande, daß das Seewasser die abgegebene Kohlensäure als Bicarbonat zu binden und so ihre Wirkung fast völlig zu beseitigen vermag. Diese in ihrer Bedeutung bisher kaum genügend gewürdigte Tatsache muß eine außerordentliche Erleichterung der Kohlensäureausscheidung bedingen, die vielleicht zur Erklärung von mancherlei Erscheinungen herangezogen werden kann.[2]) Auch

---

[1]) Vgl. hierüber H. Winterstein, Beiträge zur Kenntnis der Fischatmung. Pflügers Archiv, 125, 73, 1908.

[2]) So hat z. B. Bethe (Die Bedeutung der Elektrolyten für die rhythmischen Bewegungen der Medusen, 1. Teil. Pflügers Archiv 124, 541, 1908) kürzlich die Beobachtung mitgeteilt, daß künstliches Seewasser die rhythmische Tätigkeit von Rhizostoma nur dann ebensogut zu erhalten vermag wie natürliches, wenn es mit $CaCO_3$ gesättigt wurde. Dieser Effekt war durch andere Ca-Salze nicht zu erzielen und mußte daher „auf die Wirkung der undissoziierten $CaCO_3$-Moleküle bezogen werden". Diese auf den ersten Blick sehr befremdliche Beobachtung ist auf Grund der obigen Erörterungen vielleicht in einfacher Weise durch den Umstand erklärbar, daß nur bei Anwesenheit von $CaCO_3$, nicht aber der eines anderen Ca-Salzes eine Bindung der von den Tieren ausgeschiedenen CO_2 als Bicarbonat möglich ist, und daß es beim Ausbleiben dieser Bindung viel rascher zu einer schädlichen Ansammlung der lähmend wirkenden CO_2 kommt. Gegen diese Deutnng spricht allerdings die Angabe, daß die gleiche Wirkung durch Zusatz von Na_2CO_3 nicht erzielbar war, doch fragt es sich, inwieweit dabei die normalen Alkalinitätsverhältnisse gewahrt blieben.

Merkwürdigerweise hat Bethe geglaubt, daß im Seewasser nur neutrales Carbonat vorhanden sei; denn in einer Anmerkung auf Seite 537 (a. a. O.) schreibt er: „Winterstein (Zeitschr. f. allg. Physiol. 5, 329, 1905) und andere geben wohl unter der Annahme, daß der kohlensaure Kalk wie im Süßwasser als Bicarbonat gelöst sei, an, daß man Seewasser zur Befreiung von Gasen nicht kochen dürfe, weil es sonst an Kalk verarme. Tatsächlich fällt beim Kochen niemals Kalk aus." Die Annahme, daß im Seewasser Calcium-Bicarbonat vorhanden sei, ist bisher wohl von niemandem bezweifelt worden, weil sie sich aus hier nicht näher zu erörternden Gründen von selbst versteht. Dies scheint Bethe selbst auch inzwischen erkannt zu haben, da in seiner zweiten Mitteilung

die an Maja angestellte Beobachtung (vgl. S. 401), daß während des Landaufenthaltes eine sehr viel stärkere Zunahme des Kohlensäuregehaltes als Abnahme des Sauerstoffgehaltes im Blute feststellbar ist, erscheint von diesem Gesichtspunkte aus leicht verständlich.

Dem hohen k. k. österr. Ministerium für Kultus und Unterricht, sowie Herrn Hofrat Prof. Exner in Wien sage ich für die Überweisung eines Arbeitsplatzes an der zoologischen Station, Herrn Geheimrat Dohrn sowie den Herren Abteilungsvorständen daselbst, insbesondere den Herren Dr. Henze, Bauer und Cav. Lo Bianco, sage ich für ihr freundliches Entgegenkommen und vielfache Unterstützung meinen verbindlichsten Dank.

Anhang.

Analytische Belege.

(t = Temperatur, B = Barometerstand, bei welchen die Einstellung des Analysenapparates erfolgte.)

Versuch 2.

Luftgesättigtes Blut von Octopus.
t = 23,4; B = 765,5.

	a) 10 ccm Blut			b) 4,9 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	* ?			509,6	457,6	9,34
CO_2	632,0	567,5	5,68	235,2	211,2	4,31
O_2	456,8	410,2	4,10	236,8	212,6	4,34
N_2	?			37,6	33,8	0,69

* Verlust einer kleinen Gasmenge, daher Gesamtgas und N_2 nicht bestimmbar, die anderen Werte vermutlich etwas zu gering.

(Pflügers Archiv 127, 219, 1909) mehrfach von dem Gehalt des Seewassers an Bicarbonat die Rede ist. Auch die Behauptung, daß beim Kochen des Seewassers niemals Kalk ausfalle, ist unrichtig. Allerdings tritt — wegen der großen Löslichkeit des neutralen Carbonats im Seewasser — beim einfachen Aufkochen keine Fällung ein; setzt man das Kochen aber — wie dies zum Austreiben der Gase natürlich notwendig ist — längere Zeit, auch nur 15 Minuten, fort, so tritt eine dichte Trübung auf. Meine Angabe, daß durch Auskochen kein sauerstofffreies Seewasser von unveränderter Zusammensetzung gewonnen werden könne, war daher vollständig korrekt.

Versuch 3.

Luftgesättigtes Blut von Octopus.
t = 22,6; B = 772.

	a) 10 ccm Blut			b) 20 ccm Blut		
	unreduziert ccm	reduziert ccm	Vol.-%	unreduziert ccm	reduziert ccm	Vol.-%
Gas	1387,2	1245,0	12,45	2705,6	2428,3	12,14
CO_2	793,6	712,3	7,12	1472,8	1321,8	6,61
O_2	462,4	415,0	4,15	976,0	876,0	4,38
N_2	131,2	117,7	1,18	256,8	230,5	1,15

Versuch 4.

Luftgesättigtes Octopusblut, ohne Zusatz von Borsäure ausgepumpt.
t = 22,5; B = 768,5.

	c) 3,7 ccm Blut		
	unreduziert ccm	reduziert ccm	Vol.-%
Gas	256,6	240,6	6,50
CO_2	32,0	29,0	0,78
O_2	172,0	155,8	4,21
N_2	61,6	55,8	1,51

Versuch 5.

Luftgesättigtes Octopusblut. a) normal, b) Blutkörperchen abzentrifugiert.
t = 21,0; B = 768,5.

	a) 10 ccm Blut			b) 9 ccm Blut		
	unreduziert ccm	reduziert ccm	Vol.-%	unreduziert ccm	reduziert ccm	Vol.-%
Gas	* ?			1206,4	1101,3	12,24
CO_2	?			686,4	626,6	6,96
O_2	440,8	402,4	4,02	416,8	380,5	4,23
N_2	?			103,2	94,2	1,07

* Wegen Verlustes einer kleinen Gasmenge nur der O_2-Wert bestimmbar, dieser vermutlich etwas zu gering.

Versuch 6.

Octopusblut; Körperchen abzentrifugiert. a) mit Luft, b) mit Atmosphäre von über 90% O_2-Gehalt gesättigt.
t = 20,1; B = 762,8.

	a) 10 ccm Blut			b) 10 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1139,2	1036,7	10,37	984,0	895,5	8,96
CO_2	500,8	455,8	4,56	229,6	208,9	2,09
O_2	517,6	471,0	4,71	697,6	634,9	6,35
N_2	120,8	109,9	1,10	56,8	51,7	0,52

Versuch 7.

Octopusblut, gesättigt mit Atmosphäre von über 90% O_2-Gehalt.
t = 20,3; B = 765,2.

	c) 4,7 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
CO_2	47,2	43,1	0,92
O_2	344,8	321,8	6,69

Versuch 8.

Octopusblut. a) Arterienblut, b) mit Luft gesättigt und abzentrifugiert.
t = 21,3; B = 763,3.

	a) 4,5 ccm Blut			b) 3,5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	620,8	561,9	12,49	403,2	365,0	10,43
CO_2	313,6	283,9	6,31	149,6	135,4	3,87
O_2	233,6	211,4	4,70	191,2	173,1	4,94
N_2	73,6	66,6	1,48	62,4	56,5	1,61

Versuch 9.

Octopusblut. a) Arterienblut, b) und c) mit Luft gesättigt.
t = 17,8; B = 758,7.

	a) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	736,8	674,5	13,49
CO_2	387,2	354,5	7,09
O_2	254,4	232,9	4,66
N_2	95,2	87,1	1,74

	b) 4,5 ccm Blut			c) 3,5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	491,2	449,7	9,99	374,4	342,8	9,79
CO_2	164,8	150,9	3,35	112,0	102,6	2,93
O_2	246,4	225,6	5,01	188,0	172,1	4,92
N_2	80,0	73,2	1,63	74,4	68,1	1,95

Versuch 10.

Blut von Maja, mit Luft gesättigt.
t = 19,0; B = 766.

	a) 10 ccm Blut			b) 10 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	2820,8	2592,4	25,92	2878,4	2645,2	26,45
CO_2	2632,8	2419,6	24,20	2632,0	2419,0	24,19
O_2	122,4	112,5	1,13	119,2	109,5	1,10
N_2	65,6	60,3	0,60	127,2	116,9	1,17

Versuch 11.

Octopusblut. a) Venenblut, b) luftgesättigtes Blut.
t = 20,0; B = 767,2.

	a) 4,34 ccm Blut			b) 8,2 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	342,4	313,6	7,22	856,0	784,0	9,56
CO_2	266,4	244,0	5,62	384,8	352,4	4,30
O_2	0	0	0	341,6	312,9	3,82 (?)
N_2	76,0	69,6	1,60	129,6	118,7	1,45

Versuch 12.

Octopusblut. a) Venenblut, b) luftgesättigtes Blut.
t = 20,9; B = 767,4.

	a) 5 ccm Blut			b) 15 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	589,6	537,7	10,75	1184,8	1080,6	7,20
CO_2	500,8	456,7	9,13	775,2	707,0	4,71
O_2	16,8	15,3	0,31	248,0	226,2	1,51 (??)
N_2	72,0	65,7	1,31	161,6	147,4	0,98

Versuch 13.

Blut von Maja. a) Perikardblut, b) luftgesättigtes Blut.
t = 20,7; B = 765,5.

	a) 4,5 ccm Blut			b) 10 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1248,8	1137,1	25,27	2205,6	2008,4	20,08
CO_2	1167,2	1062,8	23,62	1978,4	1801,5	18,02
O_2	21,6	19,7	0,44	104,8	95,4	0,95
N_2	60,0	54,6	1,21	122,4	111,5	1,12

Versuch 14.

Octopusblut, mit Luft gesättigt.
t = 18,3; B = 764,4.

	a) 7 ccm Blut			b) 3,8 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	649,6	597,8	8,54	376,0	346,0	9,11
CO_2	212,0	195,1	2,79	134,4	123,7	3,25
O_2	348,0	320,2	4,57	189,6	174,5	4,59
N_2	89,6	82,5	1,18	52,0	47,8	1,26

	c) 8 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	941,6	866,5	10,83
CO_2	440,0	404,9	5,06
O_2	399,2	367,4	4,59
N_2	102,4	94,2	1,18

Versuch 15.

Octopusblut. a) Venenblut, b) Arterienblut.
t = 16,4; B = 762,6.

	a) 5 ccm Blut			b) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	520,0	481,8	9,64	413,6	383,2	7,66
CO_2	417,6	386,9	7,74	128,0	118,6	2,37
O_2	50,4	46,7	0,93	} 285,6	264,6	(ca. 4) 5,29 (ca. 1)
N_2	52,0	48,2	0,96			

Versuch 16.

Octopusblut. a) luftgesättigtes Blut, b) Venenblut.
t = 17; B = 758,4.

	a) 4,9 ccm Blut			b) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	522,4	479,9	9,79	492,8	452,7	9,05
CO_2	240,0	220,5	4,50	426,4	391,7	7,83
O_2	224,8	206,5	4,21	14,4	13,2	0,26
N_2	57,6	52,9	1,08	52,0	47,8	0,96

Versuch 17.

Octopusblut. a) Arterienblut, b) luftgesättigtes Blut, c) Venenblut.
t = 17,6; B = 749,8.

	a) 3,68 ccm Blut			b) 3,15 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	416,8	377,4	10,25	279,2	252,8	8,03
CO_2	160,0	144,9	3,94	63,2	57,2	1,82
O_2	188,8	170,8	4,64	168,8	152,9	4,85
N_2	68,0	61,6	1,67	47,2	42,7	1,36

	c) 4 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	355,2	321,6	8,04
CO_2	289,6	262,2	6,56
O_2	17,6	15,9	0,40
N_2	48,0	43,5	1,09

Versuch 18a.

Palinurusblut, mit Luft gesättigt.

Versuch 18b.

Palinurusblut, direkt aus dem Bein.

t = 16,3; B = 761,7.

	10 ccm Blut			ca. 3,3 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	977,6	900,8	9,01	310,4	286,0	ca. 8,5
CO_2	689,6	635,4	6,35	219,2	202,0	„ 6
O_2	160,8	148,2	1,48	36,8	33,9	„ 1
N_2	127,2	117,2	1,17	54,4	50,1	„ 1,5

Versuch 19.

Palinurusblut, mit Luft gesättigt.
t = 14,9; B = 766,2.

	10 ccm Blut unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	973,6	912,9	9,13
CO_2	674,4	632,4	6,32
O_2	152,0	142,5	1,43
N_2	147,2	138,0	1,38

Versuch 20.

Blut von Maja. a) Perikardblut, b) luftgesättigtes Blut.
t = 16,55; B = 766,0.

	a) 5 ccm Blut			b) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	870,4	809,6	16,19	710,4	660,8	13,22
CO_2	735,2	683,8	13,68	582,4	541,7	10,83
O_2	40,8	38,0	0,76	48,8	45,4	0,91
N_2	94,4	87,8	1,76	79,2	73,7	1,47

Versuch 21.

Blut von Maja. a) Perikardblut (Wasseraufenthalt), b) Perikardblut nach 2stünd., c) nach 8stünd. Landaufenthalt, d) luftgesättigtes Blut.
t = 15,7; B = 767,3.

	a) 5 ccm Blut			b) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1529,6	1431,0	28,62	1757,6	1644,3	32,88
CO_2	1420,0	1328,5	26,57	1661,6	1554,5	31,09
O_2	28,0	26,2	0,52	20,0	18,7	0,37
N_2	81,6	76,3	1,53	76,0	71,1	1,42

	c) 5 ccm Blut			d) 5 ccm Blut		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1862,4	1742,3	34,85	1569,6	1473,7	29,47
CO_2	1772,0	1657,7	33,15	1448,8	1360,2	27,20
O_2	16,8	15,7	0,31	44,8	42,1	0,84
N_2	73,6	68,9	1,38	76,0	71,4	1,43

Versuch 22. | Versuch 23.

Leibeshöhlenflüssigkeit von Sipunculus, mit Luft gesättigt.

t = 14,7; B = 755,7.

	4,8 ccm			4,8 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	484,0	448,0	9,33	563,2	521,2	10,86
CO_2	296,0	274,0	5,71	372,8	345,0	7,19
O_2	96,0	88,9	1,85	117,6	108,8	2,27
N_2	92,0	85,1	1,77	72,8	67,4	1,40

Versuch 26.

Leibeshöhlenflüssigkeit von 2 Sipunculus. a) abzentrifugiertes Plasma, mit Luft gesättigt, b) genuine Flüssigkeit, mit Luft gesättigt.

t = 15,4; B = 765,4.

	a) 6 ccm			b) 6 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1088,0	1016,7	16,94	1111,2	1038,4	17,31
CO_2	967,2	903,8	15,06	888,8	830,6	13,84
O_2	30,4	28,4	0,47	134,4	125,6	2,09
N_2	90,4	84,5	1,41	88,0	82,2	1,37

Versuch 27.

Leibeshöhlenflüssigkeit von Sphaerechinus, mit Luft gesättigt.

t = 15,2; B = 772,8.

	a) 10 ccm			b) 10 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	968,0	914,4	9,14	930,4	878,8	8,79
CO_2	777,6	734,5	7,35	760,0	717,9	7,18
O_2	67,2	63,5	0,63	56,0	52,9	0,53
N_2	123,2	116,4	1,16	114,4	108,1	1,08

Versuch 28.

1 Strongylocentrotus.

Versuch 29.

2 Strongylocentrotus.
Leibeshöhlenflüssigkeit mit Luft gesättigt.
t = 16,3; B = 770,2.

	Nr. 28. 10 ccm			Nr. 29. 10 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1181,6	1106,5	11,07	961,6	900,4	9,00
CO_2	1012,8	948,4	9,48	792,8	742,4	7,42
O_2	55,2	51,7	0,52	60,8	56,9	0,57
N_2	113,6	106,4	1,06	108,0	101,1	1,01

Versuch 31.

Leibeshöhlenflüssigkeit von 3 Sipunculus. a) direkt entnommen, b) mit Luft gesättigt.
t = 15,5; B = 766,6.

	a) 8,2 ccm			b) 8 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	1704,0	1594,1	19,44	1436,0	1343,4	16,79
CO_2	1560,0	1459,4	17,80	1194,4	1117,4	13,97
O_2	46,4	43,4	0,53	150,4	140,7	1,76
N_2	97,6	91,3	1,11	91,2	85,3	1,06

Versuch 32.

Leibeshöhlenflüssigkeit von Glycera, mit Luft gesättigt.
t = 16,1; B = 763,8.

	1,2 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	122,4	113,7	9,48
CO_2	64,8	60,2	5,02
O_2	39,2	36,4	3,03
N_2	18,4	17,1	1,43

Versuch 33.

Blut von 5 Cardita, mit Luft gesättigt.

Versuch 34.

Blut von 6 Cardita, mit Luft gesättigt.
t = 14,8; B = 755,3.

	Nr. 33. 4,9 ccm			Nr. 34. 4,9 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	340,0	314,3	6,42	348,8	322,5	6,58
CO_2	232,0	214,5	4,38	254,4	235,2	4,80
O_2	59,2	54,7	1,12	49,6	45,9	0,94
N_2	48,8	45,1	0,92	44,8	41,4	0,84

Versuch 35.

Blut (?) von 1 Ascidia mamm., mit Luft gesättigt.

Versuch 36.

Blut (?) von 1 Ascidia mamm., mit Luft gesättigt.
t = 15,3; B = 755,0.

	Nr. 35. 6 ccm			Nr. 36. 5 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	128,0	117,3	1,95	99,2	90,9	1,82
CO_2	16,0	14,7	0,24	16,0	14,7	0,29
O_2	24,8	22,7	0,38	26,4	24,2	0,48
N_2	87,2	79,9	1,33	56,8	52,0	1,04

Versuch 37.

Blut von 3 Pectunculus, mit Luft gesättigt.

Versuch 38.

Blut von 2 Pectunculus, mit Luft gesättigt.
t = 14,8; B = 765,0.

	Nr. 37. 4,9 ccm			Nr. 38. 7 ccm		
	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%	unreduziert cmm	reduziert cmm	Vol.-%
Gas	508,8	473,7	9,67	700,8	652,5	9,32
CO_2	405,6	377,6	7,71	546,4	508,7	7,27
O_2	37,6	35,0	0,71	69,6	64,8	0,92
N_2	65,6	61,1	1,25	84,8	79,0	1,13

Versuch 39.
Blut von 36 Patella, mit Luft gesättigt.
t = 14,55; B = 758,4.

Versuch 40.
Blut von 2 Pinna, mit Luft gesättigt.
t = 14,55; B = 758,4.

	4,9 ccm unreduziert cmm	4,9 ccm reduziert cmm	4,9 ccm Vol.-%	10 ccm unreduziert cmm	10 ccm reduziert cmm	10 ccm Vol.-%
Gas	756,8	703,5	14,36	708,8	658,9	6,59
CO_2	662,4	615,7	12,57	550,4	511,6	5,12
O_2	36,0	33,5	0,68	61,6	57,3	0,57
N_2	58,4	54,3	1,11	96,8	90,0	0,90

Versuch 41.
Blut von 1 Pectunculus, mit Luft gesättigt.
t = 15,5; B = 761,9.

Versuch 42.
Blut von 12 Glycera, mit Luft gesättigt.
t = 15,5; B = 761,9.

	4,4 ccm unreduziert cmm	4,4 ccm reduziert cmm	4,4 ccm Vol.-%	1,53 ccm unreduziert cmm	1,53 ccm reduziert cmm	1,53 ccm Vol.-%
Gas	461,6	429,2	9,75	167,2	155,5	10,16
CO_2	358,4	333,2	7,57	101,6	94,5	6,17
O_2	52,8	49,1	1,12	42,4	39,4	2,58
N_2	50,4	46,9	1,06	23,2	21,6	1,41

Bemerkungen über die in dunkel gehaltenem Seewasser auftretenden Änderungen des Sauerstoffgehaltes.

Von

Hans Winterstein.

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)

(Eingegangen am 12. Juni 1909.)

Der Kreislauf der Gase im Meere ist ein noch recht dunkles Problem. Dem gewaltigen Verlust an Sauerstoff, der unaufhörlich durch die Lebens- und Verwesungsvorgänge herbeigeführt werden muß, können wir außer dem bekanntlich äußerst langsamen Diffusionsprozesse bisher nur die Meeresströmungen als Quelle der Sauerstoffzufuhr entgegenstellen. Die bei den Süßwässern sehr bedeutungsvolle Sauerstoffproduktion durch Chlorophyll führende Organismen kann im Meere höchstens beim Oberflächenwasser für die Sauerstoffversorgung eine Rolle spielen, da schon in relativ geringe Tiefen das Licht nicht mehr eindringt. In noch verstärktem Maße gelten diese Erwägungen für die Kohlensäure, deren Menge nicht nur durch die den Sauerstoffverlust bedingenden Faktoren, sondern — wie aus dem geringeren Kohlensäuregehalt der über dem Ozean liegenden Atmosphäre hervorgeht — auch durch Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft eine immerwährende Steigerung erfahren müßte.[1])

Es würde begreiflicherweise eine wesentliche Aufklärung dieses Problemes bedeuten, wenn es gelänge, nachzuweisen, daß auch im Dunkel der Meerestiefen Umsetzungen vor sich gehen,

[1]) Eine ausführlichere Darlegung unserer bisherigen Kenntnisse über den Kreislauf der Gase im Wasser soll demnächst an anderer Stelle gegeben werden.

die gleich den unter dem Einfluß des Lichtes sich abspielenden Assimilationsprozessen zu einer Produktion von Sauerstoff auf Kosten der Kohlensäure Anlaß geben. Solchen Umsetzungen glaubt Pütter[1]) in dem Seewasser des Golfes von Neapel auf die Spur gekommen zu sein. Die Beweisführung Pütters, daß in dunkel gehaltenem Seewasser Prozesse stattfinden, die zu einem Freiwerden von Sauerstoff führen, gründet sich auf Beobachtungen zweifacher Art: Einmal fand er bei Vergleich filtrierter und unfiltrierter Portionen desselben dunkel gehaltenen Seewassers, daß die im Verlaufe von 24 Stunden eingetretene Sauerstoffzehrung in den ersteren häufig geringer war als in den zweiten. Die Erklärung dieser Erscheinung sucht Pütter darin, daß der im filtrierten Seewasser fast ausschließlich zum Ausdruck kommenden bakteriellen Sauerstoffzehrung im unfiltrierten Seewasser Prozesse entgegengesetzter Art gegenüberstehen, die mit einer Produktion von Sauerstoff einhergehen und daher eine Verminderung des durch die Zehrung bedingten Sauerstoffdefizits veranlassen; sie würden vielleicht durch besondere, den abfiltrierten Algen anhaftende Bakterien bedingt sein, welche im Dunkeln Kohlensäure zu spalten vermögen.

Es liegt wohl auf der Hand, daß selbst unter der Voraussetzung einwandfreier Methodik diese Beweisführung keine zwingende ist. Denn sie gründet sich auf die Annahme, daß die Sauerstoffzehrung im filtrierten und im unfiltrierten Seewasser gleich groß ist; es wäre aber immerhin auch denkbar, daß die Anwesenheit der Algen irgendwie hemmend auf die mit Sauerstoffverbrauch einhergehenden Prozesse einwirkt, so daß die geringere Verminderung des Sauerstoffgehaltes in diesem Falle einfach der Ausdruck einer geringeren Sauerstoffzehrung und nicht der einer gleichzeitigen Sauerstoffproduktion wäre.

Der zweite Beweis Pütters hingegen ist direkter Art und gründet sich auf die Beobachtung einer absoluten Zunahme des Sauerstoffgehaltes in dunkel gehaltenem Seewasser. Dieses wurde bei 10 bis 15° C in Flaschen von je 250 ccm aufbewahrt, von denen täglich Proben auf ihren Sauerstoffgehalt untersucht wurden. Dabei ergaben sich sowohl in einem an Aquarium-

---

[1]) A. Pütter, Der Stoffhaushalt des Meeres. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 7, 321, 1907.

wasser, wie in einem an filtriertem Seewasser und in drei an unfiltriertem Seewasser angestellten Versuchen gelegentliche Zunahmen des Sauerstoffgehaltes. Besonders in zwei von den letztgenannten Versuchen wurden ganz unregelmäßige Schwankungen des Sauerstoffgehaltes bald nach oben, bald nach unten gefunden (Versuch a: 8,3 — 6,5 — 7,6 — 8,0 — 7,7 — 8,2; Versuch c: 7,0 — 7,5 — 4,9 — 8,2 — 7,9 — 7,2 — 7,0 — 7,5 mg O_2 pro Liter! a. a. O. S. 354).

Bei der prinzipiellen Bedeutung, die der Feststellung derartiger Prozesse im Seewasser zukäme, schien es mir von Interesse, die Angaben Pütters während meines Aufenthaltes in Neapel bei Gelegenheit anderer Untersuchungen nachzuprüfen. Gegen ihre Richtigkeit sprach von vornherein die außerordentliche Unregelmäßigkeit der beobachteten Schwankungen des Sauerstoffgehaltes, die, wenn sie eine tatsächliche Grundlage haben sollten, den Ablauf höchst sonderbarer Prozesse zur Voraussetzung haben mußten, und daher viel eher auf methodische Fehler hinzuweisen schienen.

Pütter hat sich bei seinen Untersuchungen der Winklerschen Methode[1]) der Sauerstofftitration bedient. Die Genauigkeit dieser vortrefflichen Methode wurde durch zahlreiche Untersuchungen über jeden Zweifel erhoben. Immerhin erfordert sie gerade beim Seewasser eine besonders sorgfältige Ausführung. In seiner zweiten Mitteilung hat Winkler[2]) zur Einschränkung der durch den Zusatz der Reagenzien und durch den Sauerstoffgehalt derselben bedingten Fehler die Anwendung sehr konzentrierter Lösungen von $MnCl_2$ (ca. 80%) und NaOH (ca. 12mal normal) empfohlen. Als ich die ersten Titrationen im Seewasser mit diesen konzentrierten Lösungen ausführte, erhielt ich Werte, die außerordentlich schlecht untereinander übereinstimmten und oft viel zu niedrig waren. Als Ursache[3]) dieser Erscheinung ließ sich feststellen, daß der in dem salzreichen Seewasser bei Anwendung der konzentrierten Lösungen auf-

---

[1]) L. W. Winkler, Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 21. Jahrg., 2, 2843, 1888.

[2]) L. W. Winkler, Die Löslichkeit des Sauerstoffs im Wasser. Ebenda, 22. Jahrg., 2, 1764, 1889.

[3]) Ihre Aufdeckung verdanke ich der freundlichen Unterstützung von Herrn Dr. Henze.

tretende sehr dicke und schwere Niederschlag sich selbst bei kräftigem Umschwenken der Flasche so rasch zu Boden senkt, daß nur eine unvollständige Absorption des Sauerstoffs erfolgt. Tatsächlich sieht man häufig die den Boden des Gefäßes bedeckenden Schichten des Niederschlags ganz weiß bleiben und nur die oberen durch frei werdendes Jod eine braune Färbung annehmen. Es sind also die konzentrierten Lösungen zur Verwendung beim Seewasser nicht geeignet. Aber auch bei Anwendung schwächerer Lösungen setzt sich der Niederschlag sehr viel schneller ab als im Süsswasser, und es ist ein sehr gründliches Umschütteln der Flasche erforderlich, um eine vollständige Absorption des Sauerstoffs herbeizuführen. Wird diese Vorsichtsmaßregel nicht beobachtet, so kann man je nach der Vollständigkeit der Absorption bald höhere und bald niedrigere Sauerstoffwerte finden. Nimmt man bei Ausführung von Doppelanalysen das Umschwenken der beiden Probeflaschen gleichzeitig vor, so kann es, wie leicht verständlich, geschehen, daß die Doppelanalyse Werte liefert, die untereinander gut übereinstimmen, ihrem absoluten Werte nach aber beide falsch, nämlich zu niedrig sind.

Bei exakter Ausführung der Methode ist die Übereinstimmung der Doppelanalysen auch im Seewasser eine ausgezeichnete. Unter den 27 Doppelanalysen, die bei den später zu besprechenden 3 Versuchen ausgeführt wurden, hat die größte Differenz 0,039 ccm O_2 pro Liter betragen, was einem mittleren Fehler von weniger als 0,002 Vol.-$^0/_0$ entspricht, eine auf gasanalytischem Wege wohl kaum erreichbare Genauigkeit.

Meine Versuche wurden zunächst in der gleichen Weise angestellt wie jene von Pütter, indem das zu untersuchende Seewasser in einer größeren Zahl von Flaschen im Dunkeln aufbewahrt wurde. Die durch eingeschliffene Glasstopfen verschlossenen Flaschen dienten dann auch zur Ausführung der Sauerstoffbestimmung. Da mir gleiche Flaschen in genügender Zahl nicht zur Verfügung standen, so wurden solche von verschiedenem Rauminhalt (210 bis 310 ccm) und auch aus verschiedenem Glas (teils Jenenser, teils gewöhnliches) verwendet.

Eine notwendige Voraussetzung für die Brauchbarkeit dieser Methode ist die, daß die Sauerstoffzehrung in allen zur Aufbewahrung des Wassers dienenden Gefäßen gleichmäßig vor

sich geht, da natürlich nur unter dieser Bedingung die sukzessive Untersuchung der verschiedenen Flaschen ein Bild von dem zeitlichen Ablauf der Änderungen des Sauerstoffgehaltes zu geben vermag. Man sollte meinen, daß gut übereinstimmende Doppelanalysen eine ausreichende Garantie für das Vorhandensein einer solchen gleichmäßigen Änderung des Sauerstoffgehaltes bieten. Als ich aber in einer größeren Zahl von Versuchen, die fast durchweg nur eine Abnahme des Sauerstoffgehaltes ergeben hatten, auch tatsächlich vereinzelte Zunahmen desselben beobachten konnte, die über die Fehlergrenzen der Bestimmung hinausgingen, veranlaßte mich dies, zu untersuchen, ob nicht die gleichzeitige Analyse mehrerer in verschiedenartigen Flaschen aufbewahrter Wasserproben (zu den Doppelanalysen waren stets Flaschen von möglichst gleicher Größe und Beschaffenheit verwendet worden) untereinander differierende Resultate ergeben können. Das Resultat dieser Versuche war sehr überraschend:

Von Wasserproben, die seit 6 Tagen aufbewahrt waren, ergaben zwei Flaschen (Jenenser Glas, 286 und 283 ccm Inhalt) einen O_2-Gehalt von 5,00 und 4,96, zwei andere Flaschen (gewöhnliches Glas, 221 und 215 ccm Inhalt) hingegen einen solchen von 4,19 und 4,11 ccm p. L., also zwei Doppelanalysen, die jede für sich eine leidliche Übereinstimmung zeigten, voneinander dagegen sehr bedeutend abwichen. Zwei am nächsten Tage untersuchte Proben (gewöhnliches Glas, 252 und 248 ccm Inhalt) ergaben einen O_2-Gehalt von 4,17 und 4,22 ccm p. L., also eine bedeutende Sauerstoffzehrung gegenüber der ersten, hingegen eine leichte Sauerstoffproduktion gegenüber der zweiten Doppelanalyse des vorangegangenen Tages. Meine erste Vermutung, daß die Größe der Flaschen auf die Sauerstoffzehrung einen entscheidenden Einfluß ausübe, erwies sich als irrig, da auch an Gefäßen von annähernd gleicher Größe (und gleichem Glase) bedeutende Differenzen in dem Sauerstoffgehalt des in ihnen aufbewahrten Wassers beobachtet werden konnten. So ergab Seewasser, das in 7 größeren Glasgefäßen (von ca. 1300 ccm Inhalt) aufbewahrt wurde, in den täglich aus je einem Gefäß entnommenen Proben eine konstante Abnahme des Sauerstoffgehaltes; als aber am 5. Tage gleichzeitig Proben aus drei Gläsern entnommen wurden, zeigte das Wasser des ersten einen

O_2-Gehalt von 4,89, das des zweiten von 4,34 und das des dritten sogar nur von 2,07 ccm p. L. Die abnorm große Verminderung des Sauerstoffgehaltes im letzteren Falle erklärte sich durch die Anwesenheit eines kleinen, der Gefäßwand anhaftenden Gewebspartikels, das in vertrocknetem Zustand bei der Reinigung des Gefäßes vor dem Versuch der Beobachtung entgangen, im Seewasser aber aufgequollen war und zu stärkeren Fäulnisprozessen Veranlassung gegeben hatte. Diese Versuche zeigen, daß in verschiedenen Gefäßen die Änderungen des Sauerstoffgehaltes durchaus nicht gleichmäßig verlaufen müssen, sondern hauptsächlich wohl infolge der Verschiedenheit der bakteriellen Infektion, vielleicht aber auch aus anderen Ursachen mitunter bedeutende Differenzen zeigen können. Aus der Untersuchung solcher Proben läßt sich demgemäß auch keine sichere Schlußfolgerung über den Ablauf der Änderungen des Sauerstoffgehaltes ziehen; untersucht man z. B. Proben mit stärkerer O_2-Zehrung nach solchen mit geringerer, so entsteht der Anschein einer abnorm großen O_2-Zehrung, untersucht man umgekehrt solche mit geringerer nach solchen mit stärkerer O_2-Zehrung, so kann sogar eine O_2-Produktion vorgetäuscht werden.[1])

Ein sicherer Schutz gegen derartige Irrtümer ist offenbar nur dann gegeben, wenn sämtliche Proben aus ein und demselben Wasserbehälter entnommen werden. Ich habe daher drei Versuche in der Weise angestellt, daß das Seewasser in große, mehrere Liter fassende Flaschen, die vorher mit Salz-

[1]) Diese Erscheinung kommt in sehr deutlicher Weise auch in Beobachtungen zum Ausdruck, die Fox (On the determination of the atmospheric gases dissolved in sea-water, Publications de circonstance, No. 21, Copenhague 1905) an etwas fauligem Wasser des Christianiafjords angestellt hat. Die gleichfalls in einzelnen Flaschen aufbewahrten und in größeren Zeiträumen untersuchten Wasserproben zeigen bei allgemeiner Tendenz zur Abnahme doch große Unregelmäßigkeiten des O_2-Gehaltes, die zwar großenteils in die hier viel weiteren Fehlergrenzen hineinfallen, zum Teil aber weit über sie hinausgehen. So zeigt z. B. die Probe vom 5. Tag einen O_2-Gehalt von 1,58, die vom 6. einen solchen von 2,50 ccm p. L., die vom 15. einen solchen von 0,15, die vom 25. einen solchen von 0,52 ccm p. L. Auch diese scheinbaren Steigerungen des O_2-Gehaltes (die übrigens vom Autor gar nicht weiter berücksichtigt wurden) sind zweifellos einfach auf eine verschiedene Intensität der O_2-Zehrung zurückzuführen.

säure und Salpetersäure gründlich gereinigt worden waren, gebracht und durch eine 2 bis 3 cm hohe Schicht Paraffinöl gegen die Luft abgeschlossen wurde. Aus diesen Flaschen wurden durch eine untere Ausflußöffnung täglich zwei Proben zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes entnommen. Dieses Verfahren hat gegenüber der Aufbewahrung in gesonderten, unmittelbar zur O_2-Bestimmung verwendbaren Flaschen allerdings zwei Nachteile; einmal den, daß die Überschichtung mit Paraffinöl kein exakter Luftabschluß ist, und zweitens den, daß bei der Entnahme der Wasserproben Änderungen des Sauerstoffgehaltes eintreten können. (Für die Annahme, daß das Öl als solches einen Einfluß auf die im Wasser sich abspielenden Prozesse ausübe, hat sich kein Anhaltspunkt ergeben; die beobachteten Änderungen des O_2-Gehaltes waren durchaus von gleicher Größenordnung wie die bei Anwendung kleiner Flaschen mit Glasstopfen gewöhnlich gefundenen.) Wenn aber, wie dies bei allen Versuchen der Fall war, der O_2-Gehalt des untersuchten Wassers sich von dem des luftgesättigten nur wenig entfernt, so ist weder von der Diffusion durch die Ölschicht, noch von dem (sehr sorgfältig vorgenommenen) Ablassen der Wasserproben eine merkliche Änderung des Sauerstoffgehaltes zu befürchten; auch konnten, da es sich durchweg um Wasser handelte, dessen O_2-Gehalt etwas geringer war, als der völligen Luftsättigung entsprochen hätte, beide Fehlerquellen nur im Sinne einer Zunahme des O_2-Gehaltes, also einer O_2-Produktion, wirken. Die Resultate dieser drei Versuche sind im folgenden zusammengestellt (O_2-Gehalt in ccm p. L.):

12. bis 23. März	19. bis 26. März	20. bis 26. März
5,74	5,73	5,70
5,72	5,57	5,49
5,55	5,46	5,38
5,47	5,26	5,29
5,32	5,11	5,20
5,16	4,88	5,08
5,10	4,65	4,98
4,98	4,44	
4,94		
4,91		
4,86		
4,89		

Wie man sieht, ist unter diesen Versuchsbedingungen nichts mehr von unregelmäßigen Schwankungen wahrnehmbar. In allen drei Fällen findet eine Sauerstoffzehrung statt, die in den ersten 8 Tagen eine annähernd konstante Größe zeigt (0,1 bis 0,2 ccm p. L.); in dem auch noch in der zweiten Woche weitergeführten Versuch nimmt ihre Intensität dann ab, so daß die Schwankungen des Sauerstoffgehaltes der letzten Versuchstage zur Gänze in das Bereich der Fehlergrenzen fallen. Für den Ablauf irgendwelcher mit Sauerstoffproduktion einhergehender Prozesse ist keinerlei Anhaltspunkt gegeben.

Die abweichenden Resultate Pütters sind, wie ich glaube, durch die erörterten Fehlerquellen ausreichend erklärbar. Inwieweit bei seinen Versuchen eine Ungleichmäßigkeit der Sauerstoffzehrung in Betracht kam, ist natürlich schwer zu entscheiden; sehr wahrscheinlich ist es, daß ein zwischen zwei hohen O_2-Werten eingeschalteter abnorm niedriger Wert (wie der in Versuch c zwischen 7,5 und 8,2 mg liegende Wert 4,9) auf eine durch irgendwelche Ursachen bedingte stärkere O_2-Zehrung der betreffenden Wasserproben zurückzuführen ist. Andere Schwankungen, wie besonders die durch Ungleichmäßigkeit der O_2-Zehrung nicht erklärbare Zunahme des O_2-Gehaltes über den Anfangswert, dürften ihre Ursache einfach in der Unvollständigkeit der O_2-Absorption bei der O_2-Bestimmung haben. Tatsächlich erhebt sich in keinem einzigen Falle bei Pütter die Sauerstoffzunahme über den gewöhnlichen Sauerstoffgehalt des Seewassers (was doch sehr wohl möglich wäre, wenn es sich wirklich um eine Sauerstoffproduktion handelte), und wo, wie in Versuch c, eine Zunahme über den Anfangsgehalt eintritt, ist dieser letztere so viel niedriger als normalerweise (7 mg = 4,9 ccm statt im Mittel etwa 8 mg = 5,6 ccm p. L., wie ihn Pütter in den anderen Versuchen und auch ich in meinen um dieselbe Jahreszeit entnommenen Wasserproben beobachtet habe), daß bei der großen Konstanz des Sauerstoffgehaltes des Oberflächenwassers an seiner Unrichtigkeit kaum zu zweifeln ist.

Fassen wir die Resultate der vorangehenden Untersuchung zusammen, so ergibt sich das folgende:

Bei der Ausführung der Winklerschen Methode der Sauerstoffbestimmung im Seewasser ist die Anwendung zu konzentrierter Lösungen zu vermeiden; nach Einbringen der Reagenzien

ist ein sehr gründliches Umschütteln der Flaschen erforderlich, da sonst die Absorption des Sauerstoffs nur unvollkommen vor sich geht. Die Sauerstoffzehrung der in verschiedenen Gefäßen aufbewahrten Wasserproben braucht nicht gleichmäßig zu verlaufen, und ihre Untersuchung gestattet daher keinen sicheren Rückschluß auf den zeitlichen Ablauf der im Seewasser eintretenden Änderungen des Sauerstoffgehaltes. Ein solcher ist vielmehr nur möglich, wenn alle Proben aus ein und demselben Wasserbehälter entnommen werden. Unter Beobachtung aller dieser Vorsichtsmaßregeln ist in dunkel gehaltenem Seewasser nur eine Sauerstoffzehrung feststellbar. Für das Vorhandensein entgegengesetzter, mit Sauerstoffproduktion einhergehender Prozesse ist kein Anhaltspunkt gegeben.

Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Blutfarbstoffe und rote Blutkörperchen wie auch über optische Sensibilisation für diese Lichtwirkungen.[1])

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 21. Mai 1909.)

Mit 1 Textfigur und 1 Tafel.

Es ist nur äußerst wenig, was wir bisher mit Sicherheit über die Einwirkung des Lichtes auf Blutfarbstoffe und Blutkörperchen wissen. Der Grund hiervon ist nicht in mangelndem Interesse für diesen Gegenstand, sondern darin zu suchen, daß erst die während der letzten Jahrzehnte stattgefundene rapide Entwicklung stark chemisch wirksamer Lichtquellen — und bis zu einem gewissen Grade die Entdeckung der photobiologischen Sensibilisation — so kräftige Lichtwirkungen auf das Blut ermöglicht hat, daß diese sich beschreiben und messen lassen. Denn, wie unten gezeigt werden wird, ist die Wirkung der sichtbaren Lichtstrahlen auf die meisten Blutfarbstoffe und auf die Blutkörperchen an und für sich, wenn auch meßbar, so doch nur gering.

Meine Untersuchungen zerfallen ungezwungen in drei Gruppen.

Ausgehend von meinem früheren Nachweis, daß Bestrahlung mit ultraviolettem Lichte das Vermögen des Blutes, Sauerstoff aufzunehmen und abzugeben, herabsetzt, habe ich zuerst in dem Abschnitte „Blutfarbstoffe“ die Art und die Bedingungen

[1]) Die Hauptergebnisse dieser Arbeit wurden dem 7. internationalen Kongreß für angewandte Chemie in London, Juni 1909, vorgelegt.

dieser wie auch anderer Lichtwirkungen auf mehrere verschiedene Hämoglobinderivate festgestellt.

Darauf habe ich im Abschnitte „Blutkörperchen" die vor kurzem von anderen Forschern gefundene hämolysierende Wirkung des Lichtes und die Bedingungen für deren Eintreten untersucht.

Endlich sind unter dem Titel „Sensibilisation" mehrere neue Beobachtungen über die Wirkung einiger photobiologischen Sensibilisatoren auf Blutfarbstoffe und Blutkörperchen gesammelt und eine Theorie zu deren Erklärung aufgestellt.

Versuchsanordnung. Es wurde ausschließlich mit frischem, defibriniertem Ochsenblute oder mit daraus dargestellten gereinigten Blutkörperchen und Oxyhämoglobinlösungen gearbeitet.

Die angewandte Lichtquelle ist Kromayers Quecksilberlampe[1]), deren Licht glühenden Quecksilberdämpfen in einer U-förmigen evakuierten Röhre aus geschmolzenem Quarz entstrahlt. Die Lampe brannte in der gegebenen Aufstellung (siehe unten) mit ca. 3,6 Amp. bei einer Elektrodenspannung von ca. 120 Volt. Das entsandte Licht behielt in derselben Versuchsserie äußerst große Konstanz, was durch den Ausfall der Beleuchtungen (siehe unten) bezeugt wird, wie auch durch die Resultate der Lab-Destruktionsuntersuchungen, die S. und S. Schmidt-Nielsen[2]) bei derselben Aufstellung im hiesigen Laboratorium vorgenommen haben.

Wie aus der Fig. 1 ersichtlich ist, enthält das angewandte Licht Strahlen mit Wellenlängen von ca. 600 $\mu\mu$ bis ca. 220 $\mu\mu$. Durch Anbringung eines gewöhnlichen Glases, bzw. eines Uviolglases (planparallele Platten von 1,5 mm Dicke) vor dem Quarzfenster der Lampe wurden in einigen Versuchen die äußersten ultravioletten Strahlen abfiltriert. Das angewandte gewöhnliche Glas hielt die Strahlen von ca. 310 $\mu\mu$ bis ca. 220 $\mu\mu$, das Uviolglas nur solche von ca. 250 $\mu\mu$ bis ca. 220 $\mu\mu$ zurück.

Die Lampe ist, wie Fig. 2 zeigt, angebracht, in ein Glasaquarium mit reinem und lebhaft zirkulierendem Leitungswasser

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 10.

[2]) S. und S. Schmidt-Nielsen, Quantitative Versuche über die Destruktion des Labs durch Licht. Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 1908.

von Zimmertemperatur; der Plan ihres Quarzfensters bildet zur Senkrechten einen Winkel von 45°. Durch zwei der vier durch das Wasser zur Lampe führenden Kautschukschläuche gehen die Leitungen zu den Quecksilberelektroden der Lampe, durch die beiden anderen das Kühlwasser zu und von der Lampe. In der Achse des durch das Quarzfenster ausstrahlenden Lichtkegels ist, 3 cm von der Lampe entfernt, die Versuchskammer an einer Gabel befestigt, die mittels eines Elektromotors ca. 40 mal pro Minute um ihre Achse gedreht wird.

Von Versuchskammern wandte ich zwei Formen an:

1. die in der Fig. 2 abgebildete „große Quarzkammer". Diese ist eine zylindrische Kammer, die zusammengesetzt ist aus einem 21 mm hohen, vergoldeten, neusilbernen Ringe, 80 mm im Durchmesser, und zwei planparallelen, ebenfalls einen Durchmesser von 80 mm haltenden Quarzplatten, die durch Kautschukpackungen mittels starker, ringförmiger Metallfassungen, wie Boden und Deckel einer Schachtel, an den Ring festgeschraubt sind. Die Kammer kann bei sorgfältiger Anlegung der Packungen und festem Zuschrauben das Vakuum der Quecksilberluftpumpe stundenlang bewahren; in Versuchen mit dem Vakuum ist diese Kammer während des Auspumpens übrigens stets in Wasser versenkt. Die Kammer läßt sich durch zwei diametral entgegenstehende Metallröhren füllen und entleeren; die eine derselben sieht man in Fig. 2, durch einen Hahn mit einfacher (oder doppelter) Bohrung verschlossen. Durch diese Glashähne kann man Proben des Blutes oder des überstehenden Gases entnehmen, wie man auch den Druck des letzteren vor und nach der Bestrahlung an einem Manometer ablesen kann, mit welchem das Innere der Kammer in Verbindung gebracht wird. Die Kammer faßt ca. 100 ccm; gewöhnlich wurden 25 ccm Blut verwendet, wovon während der Rotation der Kammer sich fortwährend wechselnde Schichten über das der Lampe zugekehrte Quarzfenster verbreiteten; um die Mischung des Blutes zu sichern, sind noch an zwei diametral entgegengesetzten Stellen im Innern des Ringes zwei löffelförmige Schaufeln angebracht; jedesmal, wenn eine dieser Schaufeln während der Rotation der Kammer durch das Blut passiert, füllt sie sich mit Blut, das sie nach $^1/_4$ Umdrehung über das Quarzfenster ausgießt. Auch diese Schaufeln sind vergoldet, so daß das Blut während der

Belichtung nur mit Quarz, Gold und zwei schmalen Rändern der Kautschukpackungen in Berührung kommt.

2. Die andere Versuchskammer, die „kleine Quarzcuvette" (Fig. 3), wurde in Anwendung gebracht, teils weil sie sich leichter und sicherer zu Versuchen im Vakuum gebrauchen ließ, teils weil ihre Form sich besser zu spektroskopischen Untersuchungen in zwei Schichtendicken: 5 mm und 25 mm, eignet.

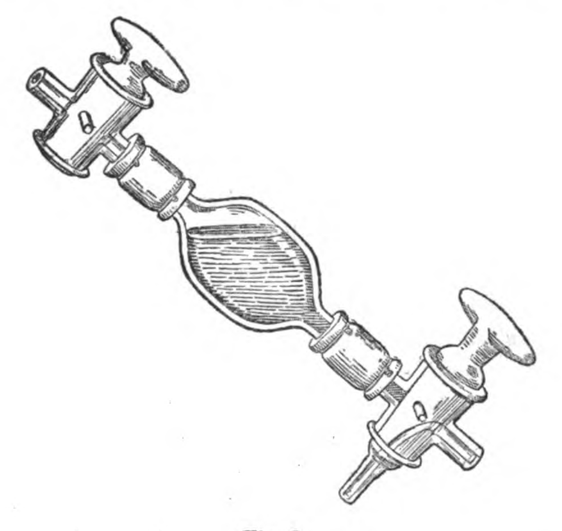


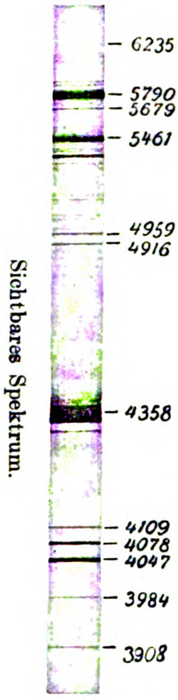
Fig. 3.

Ihr Volumen beträgt ca. 3 ccm. Während der Belichtung war sie in derselben Stellung wie die große Quarzkammer an die rotierende Gabel befestigt; wegen dieser Anbringung und weil die Cuvette nur mit 2,5 ccm Versuchsflüssigkeit gefüllt wurde, wechselte auch in dieser Versuchskammer die belichtete Schicht fortwährend, wenn auch nicht ganz so vollständig wie in der großen Quarzkammer. Die Erneuerung der belichteten Schicht ist von großer Bedeutung, weil die wirksamen äußersten ultravioletten Strahlen in Schichten farbiger Versuchsflüssigkeiten von ganz minimaler Dicke absorbiert werden, so daß nur eine Anordnung wie die hier angewandte quantitative Untersuchungen wird gestatten können.

Methodische Einzelheiten werden unten in den einzelnen Versuchsreihen erwähnt werden.

Tafel I.

K. A. **Hasselbalch**: Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Blutfarbstoffe und rote Blutkörperchen wie auch über optische Sensibilisation für diese Lichtwirkungen.



Sichtbares Spektrum.

4358
4047
3908
3663
3341
3131
3021
2967
2925
2893
2806
2759
2699
2675
2655
2576
2536
2482
2464
2446
2399
2378
2345
2301

Ultraviolettes Spektrum.
Fig. 1.

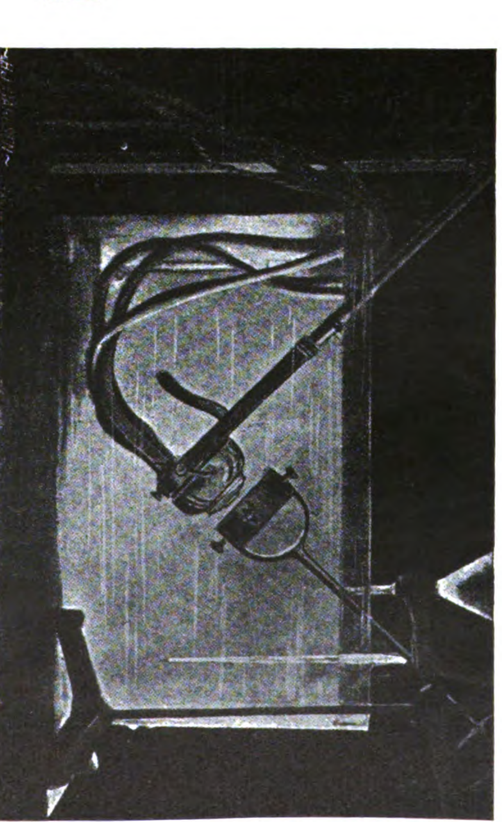


Fig. 2.

I. Blutfarbstoffe.

In einer früheren Arbeit[1]) untersuchte ich an defibriniertem Ochsenblute die Wirkung der Bestrahlung (mit parallelem Lichte einer 25 Amp.-Kohlenbogenlampe) auf das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes und fand, daß dessen Fähigkeit, Sauerstoff aufzunehmen und abzugeben, hierdurch etwas vermindert wurde. Die Wirkung, die an und für sich im Vergleich mit den unten näher zu besprechenden Wirkungen nur gering war, schien obendrein zum Teil von vorübergehender Natur zu sein. Da die Methodik in den genannten Versuchen in mehreren Beziehungen ziemlich mangelhaft war, und namentlich weil sie die Bestrahlung bei niedrigen Sauerstoffdrucken nicht gestattete, wiederholte ich vorerst diese Versuche mit der oben beschriebenen Versuchsanordnung, die u. a. Belichtung unter einem willkürlich gewählten Sauerstoffdrucke ermöglicht.

Das nähere Verfahren bei diesen Versuchen war folgendes:

In den Versuchen über den Einfluß der Belichtung auf die Sauerstoffbindung des Blutes bei variiertem Sauerstoffdruck (große Quarzkammer) hat man erst vor der Belichtung eine Gasmischung von ungefähr dem gewünschten Sauerstoffpartialdruck über die 25 ccm Blut hinzuleiten; wenn ferner die Quarzkammer nebst ihrem Inhalt nach ca. 15 Minuten dauernder Rotation im Wasserbade die Temperatur des letzteren angenommen hat, hat man die Druckdifferenz zwischen dem Gase über dem Blute und der Atmosphäre auszugleichen (durch kurzdauerndes Öffnen eines der Hähne nach der Atmosphäre oder nach einem Gasometer mit der angewandten Sauerstoffmischung). Darauf unternimmt man die Belichtung, indem ein Schirm vor der vorher angezündeten Lampe entfernt wird, und setzt nun die Kammer wieder in Rotation. Nach der Belichtung wird die Rotation bis zum sicheren Temperaturgleichgewicht fortgesetzt (2 Minuten), und man bestimmt den Gasdruck der Kammer (nachdem zwischen einem kleinen engen Wassermanometer und dem Inneren der Kammer Verbindung hergestellt ist), dann hebt man die Kammer aus dem Wasserbade und befestigt sie geschwind an einem Stativ; hierauf führt man ca. 10 ccm der über dem Blute stehenden ca. 75 ccm Gas in einen Quecksilberrezipienten über und unmittelbar darauf in einen anderen Quecksilberrezipienten mit einer Abflußröhre von 1 mm Lichtung ca. 10 ccm der 25 ccm Blut; diese 10 ccm Blut, deren genaues Volumen man durch Messen oder Wägen des herausgeflossenen Quecksilbers bestimmt, werden darauf in den evakuierten

---

[1]) K. A. Hasselbalch, Über die Wirkung des Lichtes auf die Sauerstoffbindung des Blutes. Ups. Läk. Förhandl. XI. Suppl. (Festschrift f. Hammarsten).

Rezipienten der Quecksilberpumpe gebracht und entgast. Die Gasproben analysiert man mittels eines Pettersonschen Apparates mit pyrogallussaurem Kali in der Sauerstoffabsorptionspipette. Wie die gefundenen Stickstoffmengen anzeigen, war die Genauigkeit befriedigend.

Die angegebenen Gasmengen wurden in Volumenprozenten auf 0°, 760 mm und Trockenheit umgerechnet. Die physikalisch absorbierten Gasmengen („Phys. abs.") wurden unter der Voraussetzung berechnet, daß die Absorptionskoeffizienten des Blutes für N_2 und O_2 gleich denen des Wassers sind. Die in den Tabellen hervorgehobene „O_2-Diff." bezeichnet unter dieser Voraussetzung nun den an das Hämoglobin gebundenen, auspumpbaren Sauerstoff. Die „N_2-Diff." gibt, unter derselben Voraussetzung, einen Ausdruck der Genauigkeit, womit man gearbeitet hat; man muß hierbei bemerken, daß alle Fehler der Übertragungen und der Analyse sich zu dieser Größe addieren, die stets eine positive ist. Die Spannung der Gase („Sp. mm") ist in Millimetern Hg angegeben, diese ist vor und nach der Belichtung ziemlich gleich, denn die Belichtung verändert die Druck- und Temperaturverhältnisse in der Kammer nur in sehr geringem Grade.

1. Versuch vom 22. II. 08.

Angewandt zu jedem Versuche 25 ccm def. Ochsenblut. Atm. Luft (nicht analysiert) in der großen Quarzkammer.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
Bel. durch Quarz 60',	Vol.-% CO_2	57,39	—	—	—
Temp. 15,55°,	„ O_2	7,26	0,68	6,58	ca. 150
Anal. 9,3 ccm Blut.	„ N_2	1,62	1,35	0,27	„ 570
Unbelichtet 60' im					
Wasserbade,	„ CO_2	54,25	—	—	—
Temp. 15,70°.	„ O_2	17,09	0,68	16,41	„ 150
Anal. 9,3 ccm Blut.	„ N_2	1,48	1,35	0,13	„ 570

Nach S. Schmidt-Nielsens Untersuchungen über die Destruktion des Labs durch Licht (l. c.) läßt sich annehmen, daß dieser Prozeß ca. 10mal geschwinder im Lichte der Quecksilberquarzlampe als im Focus des ad modum Finsen konzentrierten Lichtes einer 50 Amp. × 45 Volt Kohlenbogenlampe erfolgt. Hiermit steht das Resultat des Versuchs 1 in Übereinstimmung, wenn man es mit den unbedeutenden Ausschlägen in meinen früheren Versuchen (l. c.) vergleicht. Die einstündige Belichtung mit der Quecksilberquarzlampe hat die Menge des locker gebundenen Sauerstoffes von 16,41 auf 6,58 Vol.-%, oder um ca. 60% herabgesetzt.

Das belichtete Blut hatte einen eigentümlichen, an Phosphor erinnernden Geruch und war von dunkler Schokoladefarbe. Wie später gezeigt werden wird, ist diese Farbe dem Methämoglobin zuzuschreiben; da die Umbildung aber noch weiter geht (siehe unten), bezeichne ich einstweilen diese Änderung des Blutfarbstoffes als eine „Destruktion" des Oxyhämoglobins, indem dessen in biologischer Beziehung wichtigstes Vermögen, mit dem Sauerstoff eine dissoziable Verbindung einzugehen, durch die Belichtung verloren gegangen ist. Das Oxyhämoglobin ist im Versuch 1 also um 60 % „destruiert" worden.

Wirksamkeit der verschiedenen Strahlenqualitäten. Welcher Grad der destruierenden Wirkung an die verschiedenen Abschnitte des Spektrums geknüpft ist, geht aus den übereinstimmenden Resultaten der Versuche 2 und 3 hervor.

2. Versuch vom 24. II. 08.

25 ccm def. Ochsenblut in der Kammer. Atm. Luft.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
a) Bel. durch Quarz 60′,	Vol.-% CO_2	52,90	—	—	12,1
Temp. 15,2°,	„ O_2	8,59	0,64	7,95	143,0
Anal. 9,6 ccm Blut.	„ N_2	1,60	1,36	0,24	579,1
b) Bel. durch U-V-Glas 60′,	„ CO_2	51,68	—	—	15,3
Temp. 15,2°,	„ O_2	14,54	0,63	13,91	140,8
Anal. 9,65 ccm Blut.	„ N_2	1,50	1,36	0,14	578,1
c) Bel. durch gew. Glas 60′,	„ CO_2	47,11	—	—	11,8
Temp. 15,2°,	„ O_2	18,02	0,68	17,34	150,9
Anal. 9,65 ccm Blut.	„ N_2	1,46	1,34	0,12	569,3
d) Unbelichtet 60′,	„ CO_2	46,41	—	—	13,3
Temp. 15,1°,	„ O_2	18,13	0,68	17,45	149,7
Anal. 9,6 ccm Blut.	„ N_2	1,46	1,34	0,12	569,0

Betrachtet man den Gehalt des Blutes an auspumpbarem Sauerstoff als Maß für die vorhandene Oxyhämoglobinmenge, so wurde im Versuch 2 bei Bestrahlung mit Licht „destruiert":

$$600-220\ \mu\mu \quad \frac{17{,}45 \div 7{,}95}{17{,}45}\cdot 100 = 54{,}44\,\%,$$

$$600-250\ \mu\mu \quad \frac{17{,}45 \div 13{,}91}{17{,}45}\cdot 100 = 20{,}29\,\%,$$

$$600-310\ \mu\mu \quad \frac{17{,}45 \div 17{,}34}{17{,}45}\cdot 100 = 0{,}63\,\%.$$

Die destruktive Wirkung der sichtbaren Strahlen ist bei der gegebenen Versuchsanordnung also relativ unbedeutend; die ultravioletten Strahlen sind es, denen fast die ganze Wirkung zu verdanken ist, und zwar namentlich die äußersten, mit Wellenlängen von 250 bis 220 $\mu\mu$. Doch ist die destruktive Wirkung des Lichtes auf das Oxyhämoglobin bei weitem nicht so ausschließlich an die Strahlen mit Wellenlängen 250 bis 220 $\mu\mu$ gebunden, wie dessen destruktive Wirkung auf das Labferment (Schmidt-Nielsen, l. c.), die zu 96% diesen Strahlen zu verdanken ist. Das Verhältnis zwischen der Wirkung des Strahlengebietes 600 bis 220 $\mu\mu$ zu der des Strahlengebietes 600 bis 250 $\mu\mu$ ist im 2. Versuch:

$$\frac{600-220\ \mu\mu}{600-250\ \mu\mu} = \frac{54,44}{20,29} = 2,68.$$

Das entsprechende Verhältnis bei der Destruktion des Labfermentes durch Licht ist ca. 25.

3. Versuch vom 27. II. 08.

In allen Fällen 25 ccm def. Ochsenblut in der großen Quarzkammer. Atm. Luft (nicht anal.). Das Wasserbad weniger klar.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
a) Bel. durch gew. Glas 60′,	Vol.-% CO_2	48,08	—	—	—
Temp. 15,2°,	„ O_2	19,06	0,68	18,38	ca. 150
Anal. 9,9 ccm Blut.	„ N_2	1,56	1,35	0,21	„ 570
b) Bel. durch U-V-Glas 63′,	„ CO_2	50,66	—	—	—
Temp. 15,1°,	„ O_2	16,28	0,63	15,65	„ 140
Anal. 9,7 ccm Blut.	„ N_2	1,35	1,35	0	„ 580
c) Bel. durch Quarz 63′,	„ CO_2	48,18	—	—	—
Temp. 15,2°,	„ O_2	11,22	0,63	10,59	„ 140
Anal. 9,75 ccm Blut.	„ N_2	1,53	1,36	0,17	„ 580
d) Unbelichtet 63′,	„ CO_2	49,18	—	—	—
Temp. 15,2°,	„ O_2	19,28	0,68	18,60	„ 150
Anal. 9,9 ccm Blut.	„ N_2	1,61	1,35	0,26	„ 570

Die Destruktion, die ein wenig geringer ist als im 2. Versuch, vermutlich weil das Wasser des Aquariums weniger durchsichtig war, verteilt sich auf die verschiedenen spektralen Gebiete wie folgt:

Bestrahlung mit Licht 600 bis 220 $\mu\mu$ destruiert 43,07%
„ „ „ 600 „ 250 $\mu\mu$ „ 15,86%
„ „ „ 600 „ 310 $\mu\mu$ „ 1,18%

Das Verhältnis zwischen dem Wirkungsgrade des gesamten Lichtes zu dem des durch Uviolglas filtrierten Lichtes ist fast genau dasselbe wie im 2. Versuch:

$$\frac{600-220\ \mu\mu}{600-250\ \mu\mu} = \frac{43,07}{15,86} = 2,72.$$

Die Wirkung des durch gew. Glas filtrierten Lichtes ist etwas größer als im 2. Versuche; in beiden Fällen sind die Wirkungen aber so klein, daß der Unterschied von Beobachtungsfehlern herrühren kann. Daß das betreffende Strahlengebiet — 600 bis 310 $\mu\mu$ — wirklich eine oxyhämoglobindestruierende Wirkung besitzt, die bei schwächeren Konzentrationen des Blutfarbstoffes viel stärker hervortritt, wird aus späteren Versuchen erhellen.

Geschwindigkeit der Reaktion. Bei der hier angewandten Versuchsanordnung werden wegen der Rotation der Quarzkammer fortwährend neue Blutkörperchen der Belichtung ausgesetzt. Eine solche Anordnung ist, wie gesagt, bei derartigen quantitativen Untersuchungen notwendig, weil die wirksamsten Strahlen in minimalen Schichtdicken des Blutes absorbiert werden. Geschieht nun dieser Wechsel der belichteten Oberfläche regelmäßig in dem Sinne, daß die von jedem einzelnen Blutkörperchen in der Quarzkammer aufgenommene Lichtenergie der Belichtungsdauer genau proportional ist, und beruht die gefundene Destruktion auf einer direkten Lichtwirkung und nicht auf der Bildung irgendeines Stoffes, der nach seiner Verbreitung auf die Flüssigkeit die Destruktion sekundär bedingt, so ist es eine naheliegende Folgerung, daß die vom Lichte pro Zeiteinheit destruierte Oxyhämoglobinmenge der jeweilig vorhandenen Menge proportional ist. Unter diesen Voraussetzungen wird die Destruktion im Verhältnis zur Belichtungsdauer nach folgender Formel verlaufen (a bezeichnet die anfängliche Oxyhämoglobinmenge, x die während der Dauer t destruierte Oxyhämoglobinmenge, k eine Konstante):

$$\frac{dx}{dt} = k(a \div x).$$

Der 4. Versuch wurde angestellt, um die Richtigkeit dieser Formel zu prüfen. In jeder der Bestimmungen des Versuches, welche die Belichtung mit dem unfiltrierten Lichte während variierter Zeitdauer betrifft, wurde k aus obiger Formel unter Anwendung dekadischer Logarithmen berechnet (korrekt

müßten also die für k gefundenen Werte mit log. nat. $10 = 2{,}30259$ multipliziert werden).

4. Versuch vom 5. III. 08.

In allen Fällen 15 ccm def. Ochsenblut in der großen Quarzkammer. Atm. Luft. Bel. durch Quarz.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
a) Bel. 46', Temp. 15,4°,	Vol.-% CO_2	50,50	—	—	10,3
Anal. 10,45 ccm,	„ O_2	8,72	0,67	8,05	146,7
$k = 0{,}00749$.	„ N_2	1,66	1,37	0,29	588,0
b) Bel. 15', Temp. 15,4°,	„ CO_2	48,79	—	—	13,8
Anal. 10,25 ccm,	„ O_2	14,73	0,66	14,07	144,9
$k = 0{,}00679$.	„ N_2	1,63	1,37	0,26	589,3
c) Bel. 92', Temp. 15,4°,	„ CO_2	50,44	—	—	9,2
Anal. 10,0 ccm,	„ O_2	5,06	0,65	4,41	142,1
$k = 0{,}00658$.	„ N_2	1,67	1,38	0,29	592,7
d) Bel. 30', Temp. 15,3°,	„ CO_2	50,86	—	—	13,2
Anal. 10,3 ccm,	„ O_2	12,44	0,63	11,81	139,0
$k = 0{,}00593$.	„ N_2	1,49	1,39	0,10	593,8
e) Unbelichtet 65',	„ CO_2	45,52	—	—	11,8
Temp. 15,4°,	„ O_2	18,46	0,67	17,79	146,6
Anal. 10,35 ccm.	„ N_2	1,70	1,37	0,33	588,6

Die einzelnen Bestimmungen des 4. Versuches wurden in der angegebenen Reihenfolge ausgeführt. Es erweist sich, daß die Reaktionskonstante k ohne Rücksicht auf die Dauer der Belichtung von a bis d abnimmt. Dieser Umstand läßt sich entweder dadurch erklären, daß das vermeintliche Abhängigkeitsverhältnis zur Belichtungsdauer nicht existiert, oder wahrscheinlicher dadurch, daß ein systematischer Versuchsfehler vorhanden war. Ein solcher Fehler ist im 4. Versuch nun leicht nachweisbar: zu allen 4 Belichtungen wurde dasselbe Fenster der Quarzkammer dem Lichte zugekehrt, und im Protokolle findet sich die Notiz: das beleuchtete Fenster erweist sich nach dem Versuche als an fast seiner ganzen Fläche durch Beschläge getrübt.

Dreyer und Hanssen[1]) haben vor kurzem nachgewiesen, daß ultraviolettes Licht die Ausscheidung von Albuminstoffen bewirkt, und Meisling[2]) fand, daß Gelatine, auch ohne Zusatz

---

[1]) G. Dreyer und O. Hanssen, Sur la coagulation des albumines par l'action de la lumière ultraviolette et du radium. Compt. rend. 145, 1907.

[2]) Aage A. Meisling, Recherches sur la sensibilité des colloides à la lumière. Ac. roy. des scienc. et des lettres de Danemark. Extr. d. bull. 1908.

chemischer Agenzien, unter ultravioletter Belichtung erstarrt. Es liegt also nichts Überraschendes darin, daß die belichteten Blutportionen im 4. Versuch eine allmählich anwachsende Schicht von Niederschlägen an dem belichteten Fenster abgesetzt haben; wenn diese Schicht sich beim Abschlusse des Versuches auch nur als eine leichte, milchige Trübung darstellte, hat sie doch genügt, um die fortwährend sinkenden Reaktionsgeschwindigkeiten in den Bestimmungen a bis d zu bewirken.

Daß diese Erklärung die richtige ist, zeigt der 5. Versuch, wo man den genannten Fehler zum Teil dadurch eliminierte, daß die Belichtung bei jeder der Bestimmungen des Versuches durch ein blank poliertes Fenster erfolgte.

5. Versuch vom 7. III. 08.

In allen Fällen 15 ccm Blut in der großen Quarzkammer. Atm. Luft. Bel. durch Quarz.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
a) Bel. 30′, Temp. 15,1°,	Vol.-% CO_2	50,37	—	—	14,1
Anal. 9,75 ccm,	„ O_2	10,12	0,67	9,45	146,3
$k = 0{,}008\,68$.	„ N_2	1,65	1,38	0,27	585,6
b) Bel. 45′, Temp. 15,0°,	„ CO_2	52,76	—	—	14,7
Anal. 10,2 ccm,	„ O_2	7,22	0,63	6,59	137,3
$k = 0{,}009\,26$.	„ N_2	1,53	1,38	0,15	588,0
c) Bel. 100′, Temp. 15,0°,	„ CO_2	49,59	—	—	12,2
Anal. 10,10 ccm,	„ O_2	2,90	0,64	2,26	139,9
$k = 0{,}008\,82$.	„ N_2	1,54	1,37	0,17	581,9
d) Bel. 15′, Temp. 15,2°,	„ CO_2	47,35	—	—	12,7
Anal. 9,6 ccm,	„ O_2	13,60	0,66	12,94	142,7
$k = 0{,}008\,26$.	„ N_2	1,51	1,37	0,14	584,6
e) Unbelichtet 60′,	„ CO_2	44,71	—	—	11,9
Temp. 15,0°,	„ O_2	17,87	0,66	17,21	144,2
Anal. 9,8 ccm.	„ N_2	1,53	1,37	0,16	584,9

Die Einzelbestimmungen wurden im 5. Versuch in der angegebenen Reihenfolge unternommen. Die Reaktionskonstanten schwanken, wie man sieht, verhältnismäßig unbedeutend um durchschnittlich 0,008 75 herum;

$$k_{30} = 0{,}008\,68$$
$$k_{45} = 0{,}009\,26$$
$$k_{100} = 0{,}008\,82$$
$$k_{15} = 0{,}008\,26$$
$$\text{Durchschnitt } 0{,}008\,75$$

Berechnet man von dieser durchschnittlichen Reaktionsgeschwindigkeit aus den Sauerstoffgehalt des Hämoglobins nach 15; 30; usw. Minuten dauernder Belichtung, so erhält man folgende, mit den tatsächlich gefundenen recht gut übereinstimmende Werte:

O_2 des Hämoglobins in Vol.-% des Blutes im 5. Versuch.

	beobachtet	berechnet
Belichtung 0′	17,21	—
„ 15′	12,94	12,72
„ 30′	9,45	9,40
„ 45′	6,59	6,95
„ 100′	2,26	2,29

Eine so gute Übereinstimmung berechtigt zu dem Schlusse, daß die Voraussetzung der Berechnung richtig war, und daß also die Destruktion des Oxyhämoglobins durch Licht unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen wirklich mit der vermuteten Abhängigkeit von der Belichtungsdauer fortschreitet.

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Menge des belichteten Blutes. Dem Vorhergehenden zufolge wird es einleuchten, daß die in der Kammer vorhandene Blutmenge — innerhalb gewisser Grenzen — den Grad der Destruktion durch Licht beeinflußen muß, so zwar, daß während derselben Zeit eine um so größere prozentige Destruktion erzielt wird, je weniger Blut in der Kammer belichtet wird; bei kleinen Blutmengen wird nämlich das einzelne Blutkörperchen während der Rotation häufiger belichtet werden als bei großen. Ich habe keine Versuche angestellt, die speziell die Untersuchung des Verhaltens der Blutmenge zur Reaktionsgeschwindigkeit ins Auge fassen; solche Bestimmungen müßten in unmittelbarer Aufeinanderfolge ausgeführt werden, weil sowohl das Brennen der Lampe als die Klarheit des Wasserbades und die Rotationsgeschwindigkeit der Kammer wie auch noch mehrere andere Umstände bei dieser Untersuchung konstant sein müßten.

Ich habe unten indes ein paar Reaktionskonstanten aus Versuchen mit verschiedenen Blutmengen in der Kammer unter sonst — soweit sich begutachten läßt — gleichen Bedingungen zusammengestellt. Diese Versuche wurden an verschiedenen Tagen mit verschiedenem Blute unternommen; hierzu ist zu bemerken, daß die Entfernung der Kammer von der

Lampe von Tag zu Tag konstant war, daß nur solche Versuche mit aufgenommen wurden, wo das Wasserbad soeben gewechselt worden war und wo es also für die ultravioletten Strahlen, an die die Wirkung hauptsächlich gebunden ist, in ungefähr demselben Grade durchlässig war; ferner ist es nur von untergeordneter Bedeutung, daß es sich bei jedem Versuche um verschiedenes Blut handelt, wenn nur die Konzentration der Blutkörperchen einigermaßen konstant ist. Die Konstanz des Lichtes der Lampe kann ich nur schwierig beurteilen; die Stromstärke war in allen Versuchen dieselbe, im Laufe eines halben Jahres hat die Intensität des Strahlengebietes 250 bis 220 $\mu\mu$ aber nachweisbar um ca. $^1/_5$ abgenommen (wegen anwachsender Beläge an der inneren Seite der Lichtröhre: unvollständiges Vakuum, daher Oxydation des Quecksilbers); die Bestimmungen der Tabelle erstrecken sich indes nur auf 3 Wochen, so daß man wohl annehmen darf, die Intensität des Lichtes sei innerhalb dieses Zeitraumes praktisch genommen konstant geblieben.

Nummer und Datum des Versuchs	15 ccm *k*	25 ccm *k*	30 ccm *k*
5. 7. III.	0,00875	—	—
1. 22. II.	—	0,00661	—
2. 24. II.	—	0,00569	—
7. 14. III.	—	—	0,00484
k im Durchschnitt	0,00875	0,00615	0,00484

Es ist, wie bereits gesagt, nur ein bedingter Wert, der diesen Zahlen beigelegt werden darf, und es ist unmöglich, aus denselben ein zahlenmäßiges Verhältnis zwischen der Destruktionsgeschwindigkeit und der Blutmenge abzuleiten. Jedoch demonstrieren sie sehr deutlich die Notwendigkeit, bei quantitativen Untersuchungen über Lichtwirkungen auf aufgelöste oder aufgeschwemmte Körper in derselben Versuchsserie stets mit genau derselben Menge Flüssigkeit zu arbeiten und sich zu vergewissern, daß die Teile der Flüssigkeit in gleichem Maße dem Lichte ausgesetzt werden. Eine chemische oder physikalische Wirkung der Bestrahlung setzt nämlich voraus, daß das Licht absorbiert wird; hieraus folgt aber, daß tiefere Schichten weniger stark oder auch gar nicht beeinflußt werden. Eine Flüssigkeit, in welcher eine photochemische Reaktion vorgeht, ist *eo ipso* in einer gewissen Schichtdicke undurchlässig für diejenigen Strahlen, welche die Reaktion bewirken. Je mehr die untersuchte Wirkung an die äußersten ultravioletten Strahlen geknüpft ist, die in den rein oberflächlichen Schichten absorbiert werden, und je mehr undurchlässig — für sichtbare Strahlen — die Flüssigkeit ist, um so notwendiger ist es, daß die Oberfläche fortwährend wechselt.

Systematische Untersuchungen über den Einfluß der Blutmenge auf die Reaktionskonstante hätten möglicherweise zu einer Vorstellung davon führen können, wie tief die wirksamen Strahlen in das Blut eindringen. Da es sich hier um ein diskontinuierliches Spektrum mit einer nicht ausgemessenen Energieverteilung handelt, fand ich mich jedoch nicht zu solchen Untersuchungen veranlaßt.

Die Abhängigkeit der Destruktion von der Sauerstoffspannung. In den bisher besprochenen Versuchen fand die Belichtung bei der Sauerstoffspannung der Atmosphäre, ca. 150 mm Sauerstoffdruck, statt. Der 6. Versuch wurde in der S. 439 beschriebenen Weise angestellt: das Blut befand sich während der Belichtung im Gleichgewicht mit einem Gase von ca. 20 mm Sauerstoffdruck, und nach der Belichtung wurde sofort der Sauerstoffgehalt des Blutes untersucht. Darauf gerichtete Voruntersuchungen hatten mich belehrt, daß, um 15 ccm Blut in Diffusionsgleichgewicht mit 85 ccm Gas einer derartigen Zusammensetzung zu bringen, eine Versuchsdauer von (weniger als) 30 Minuten erforderlich sei; die Versuchsdauer betrug deshalb 45 Minuten.

6. Versuch vom 9. VII. 08.

In allen Bestimmungen 15 ccm def. Ochsenblut in der großen Quarzkammer.

		Im ganzen	Phys. abs.	Diff.	Sp. mm
a) Bel. durch Quarz 45′,	Vol.-% CO_2	66,58	—	—	30,7
Temp. 14,8°,	„ O_2	6,56	0,11	6,45	23,1
Anal. 9,72 ccm, $k = 0,00854$.	„ N_2	1,77	1,61	0,16	681,2
b) Bel. durch gew. Glas 45′,	„ CO_2	61,27	—	—	30,9
Temp. 14,8°,	„ O_2	15,67	0,10	15,57	21,9
Anal. 9,78 ccm.	„ N_2	1,76	1,61	0,15	681,2
c) Unbelichtet 45′,	„ CO_2	60,76	—	—	30,1
Temp. 14,85°,	„ O_2	15,71	0,10	15,61	21,1
Anal. 9,58 ccm.	„ N_2	1,89	1,62	0,27	685,8

Es erweist sich nun (6. Versuch), daß bei einem Sauerstoffpartialdruck von nur 23 mm Hg die Lichtdestruktion des Oxyhämoglobins in wohl so ziemlich demselben Umfang wie bei atmosphärischem Sauerstoffdruck statt-

findet; vgl. $k = 0{,}00854$ im 6. Versuch mit derselben Größe 0,00875 im 5. Versuch.

Die Wirkung des glasfiltrierten Lichtes (Versuch 6b) ist kaum nachweisbar.

Im 7. Versuch gelang es, das Blut bei so niedriger Sauerstoffspannung unter Belichtung zu bringen, daß die Destruktion keinen so großen Umfang wie in atmosphärischer Luft erreichte. Dies wird dadurch erwiesen, daß man dem Blute nach der Belichtung Gelegenheit gibt, sich mit atmosphärischer Luft zu sättigen: das in sauerstoffarmer Luft belichtete Blut vermag dann mehr Sauerstoff aufzunehmen als das in atmosphärischer Luft belichtete.

Außerdem untersuchte ich in diesem Versuche, ob keine Nachwirkung der Belichtung eintrete. Dies ist aber nicht der Fall, weder bei dem in sauerstoffarmem Gase, noch bei dem in atmosphärischer Luft belichteten Blute. Der Übersicht wegen sind im 7. Versuch nur die Zahlen für den Sauerstoffgehalt des Blutes in Vol.-% unter Abzug des physikalisch absorbierten Sauerstoffs angeführt.

7. Versuch vom 14. III. 08.

In allen Bestimmungen 30 ccm Blut. Große Quarzkammer.

a)	b) Bel. durch Quarz in atm. Luft 30′.	c) Unbelichtet in atm. Luft 30′.
Schütteln mit $CO_2 + N_2$ (zu gleichen Teilen) bis zum red. Hb.-Spektrum, darauf mit N_2. Nun bel. durch Quarz 30′ in sauerstoffarmem Gas. Darauf mit atm. Luft 30′ lang gesättigt. Anal. 9,6 ccm. Vol.-% O_2 15,18. Sättigung mit atm. Luft fortgesetzt. 30′ später anal. 10,2 ccm. Vol.-% O_2 15,27.	Anal. 9,72 ccm. Vol.-% O_2 14,38. Sättigung mit atm. Luft fortgesetzt 60′. Anal. 7,3 ccm. Vol.-% O_2 14,10. Sättigung mit atm. Luft ferner fortgesetzt 60′. Anal. 8,3 ccm. Vol.-% O_2 14,25.	Anal. 9,5 ccm. Vol.-% O_2 19,80.
Durchschnitt: 15,22.	14,24.	19,80.

Es zeigt sich also, daß eine energische, wenn auch nicht vollständige Austreibung des Sauerstoffs des Blutes, wie sie im 7. Versuch durch Sättigung mit einer mehrmals erneuerten

Kohlensäurestickstoffatmosphäre stattfand, bis die Spektroskopie nur das Spektrum des reduzierten Hämoglobins darbietet, einen gewissen Grad der Lichtbeständigkeit des Hämoglobins bewirken kann. Die Frage ist nun, ob ein vollständiger Mangel an Sauerstoff das Hämoglobin unter den gegebenen Versuchsbedingungen durchaus lichtbeständig zu machen imstande ist.

Um diese Frage zu untersuchen, wurden im

8. Versuch vom 21. III. 08.

25 ccm Blut ohne Anwendung von Säure und Erwärmung und während vorsichtigen Schüttelns mittels der Quecksilberluftpumpe entgast.

Ca. 15 ccm entgastes Blut wurden in die ebenfalls ausgepumpte, in Wasser versenkte große Quarzkammer gebracht, die man während des Auspumpens mit dem Rezipienten der Pumpe in Verbindung gesetzt hatte. Die 15 ccm Blut wurden darauf in einer 60′ währenden Rotation in gewöhnlicher Weise im Vakuum belichtet; Sättigung 45′ hindurch mit atm. Luft und Auspumpen von 10,2 ccm. Man bemerkte, daß das Blut während der Sättigung mit Luft seine ursprüngliche Oxyhämoglobinfarbe, nicht aber die gewöhnliche Schokoladefarbe annahm. Das Blut enthielt nach der Sättigung

	Im ganzen	Phys. abs.	Diff.
Vol.-$^0/_0$ O_2	20,65	0,65	20,00

und scheint somit von der Belichtung im Vakuum unbeeinflußt zu sein.

Bei einer vollständigen Untersuchung (9. Versuch), wo u. a. die Änderung der Konzentration berücksichtigt wurde, die das Blut durch das fast 3stündige Auspumpen erleidet, erweist es sich nun, daß eine Belichtung, die in atmosphärischer Luft das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes um ca. 50$^0/_0$ herabsetzt, im Vakuum völlig unschädlich ist. Nur das Oxyhämoglobin wird durch das Licht destruiert, während das Hämoglobin lichtbeständig ist. Dieses Resultat wird durch unten angeführte Untersuchungen andrer Art bestätigt (und ein wenig modifiziert).

9. Versuch vom 23. III. 08.

50 ccm def. Ochsenblut ausgepumpt. Ca. 20 ccm in die ausgepumpte Quarzkammer gebracht und 60′ lang im Vakuum belichtet, darauf 60′ hindurch mit atm. Luft gesättigt (a).

Die übrigen 30 ccm unbelichtet 60′ mit atm. Luft gesättigt, eine Probe anal. (b), der Rest (ca. 18 ccm) 60′ in atm. Luft belichtet (c).

a) Belichtet durch Quarz 60' im Vakuum.	b) Unbelichtet 60'. Mit atm. Luft gesättigt.	c) Bel. durch Quarz 60' in atm. Luft.
Temp. 15,0°, mit atm. Luft gesättigt.	Temp. 14,9°.	Temp. 14,9°.
9,72 ccm anal.	8,42 ccm anal.	10,0 ccm anal.
Vol.-% O_2 21,26.	Vol.-% 21,01.	Vol.-% 10,27.

Der Mechanismus der Oxyhämoglobindestruktion. Bekanntlich ionisieren und ozonisieren ultraviolette Strahlen die Luft, die sie passieren. Es liegt nahe, die Möglichkeit zu untersuchen, ob die Oxyhämoglobindestruktion indirekt durch Belichtung der Luft in und über dem Blute hervorgerufen sein könnte. Daß Ozon methämoglobinbildend wirkt, ist jedenfalls bekannt und leicht zu konstatieren; allerdings sind bedeutende Ozonmengen erforderlich.

Entstünde die Oxyhämoglobindestruktion sekundär nach einer primären Wirkung des Lichtes auf die Luft, so müßte man das sauerstoffbindende Vermögen des Blutes dadurch herabsetzen können, wenn man dieses mit belichteter Luft sättigte. Der 10. Versuch ist ein Beispiel unter mehreren der vergeblichen Bemühungen, die ich mir gab, um eine solche indirekte Destruktion des Hämoglobins mittels belichteter Luft herbeizuführen. Das negative Ergebnis ist wegen des eingeschalteten Kautschukschlauches nur hinsichtlich der Ionisierung der Luft beweisend; mit Bezug auf das Ozon siehe unten.

10. Versuch vom 28. III. 08.

50 ccm def. Ochsenblut in der „Rollflasche“[1]) behandelt mit Durchleitung a) 5 l unbelichteter atm. Luft während 45', mit Feuchtigkeit bei Zimmertemperatur gesättigt, b) atmosphärischer Luft unter denselben Bedingungen, unterwegs aber in der großen Quarzkammer von Quecksilberlicht durch Quarz belichtet. Kommunikation der Quarzkammer mit der Rollflasche mittels eines Kautschukschlauches.

	Vol.-% O_2
a)	18,04
b)	18,11

Was die Ozonbildung der Quecksilberquarzlampe betrifft, die in mehreren Publikationen über diese zu medizinischem Ge-

[1]) Eine liegende, rotierende 1 l-Flasche, durch deren Achse Luft zu- und abgeführt werden kann. Siehe meine frühere Arbeit: Über die Wirkung des Lichtes usw.

brauche konstruierte Lampe als unbestreitbar und kräftig vorausgesetzt wird, habe ich folgende Gründe, um anzuzweifeln, ob die Lampe überhaupt Ozon in meßbaren Mengen entwickelt:

1. Ozonbildung kann nach Regener[1]) bei Bestrahlung von Luft mit ultraviolettem Lichte stattfinden, aber nur mit Licht von geringerer Wellenlänge als 200 $\mu\mu$; die Wellenlänge 186 $\mu\mu$ ist die günstigste, weil hier der Sauerstoff ein Absorptionsmaximum hat.[2]) Bei der Quecksilberquarzlampe ist die Aussendung von Strahlen mit geringerer Wellenlänge als ca. 210 $\mu\mu$ ausgeschlossen, nicht des Quarzes wegen, der erst bei 185 $\mu\mu$ zu absorbieren beginnt, sondern wegen des Kühlwassers — Leitungswasser — zwischen der Lichtröhre und dem Quarzfenster. Tatsächlich wird die photographische Platte, wie bereits gesagt, sogar bei sehr langer Exponierung nur bis 220 $\mu\mu$ beeinflußt. Regener wies ferner nach (l. c.), daß Strahlen mit der Wellenlänge von ca. 257 $\mu\mu$ (deren die Lampe eine große Menge entsendet, siehe Fig. 1) die entgegengesetzte Wirkung ausüben, d. h. das Ozon in Sauerstoffmoleküle spalten, was damit in Zusammenhang steht, daß hier das Ozon ein Absorptionsmaximum hat. Von vornherein scheint also jede Möglichkeit einer Ozonbildung bei Bestrahlung von Luft mit der Quecksilberquarzlampe ausgeschlossen.

2. Selbst eine ganz unbedeutende Ozonbildung in der „großen Quarzkammer" von ca. 100 ccm müßte sich durch Druckmessungen nachweisen lassen, indem eine Ozonbildung von auch nur 0,02 ccm in der darin eingeschlossenen atmosphärischen Luft ein Sinken des Druckes um 1 mm Wasser bewirken würde.

11. Versuch vom 10. IV. 08.

Die Schaufeln sind aus der Kammer entfernt, die Quarzfenster am neusilbernen Ringe längs der Peripherie paraffiniert worden. Bei Belichtung der Luft in der Kammer, die durch Drehung eines Hahnes mit einem engen Manometer in Verbindung gesetzt werden kann, beobachtet man nach Korrektur der unbedeutenden Temperaturschwankungen (fortwährendes Umrühren des Wasserbades) durchaus keine Druckänderungen in der CO_2-freien, trocknen atm. Luft, die bestrahlt wird, nicht einmal nach $1\,^1/_2$ stündiger Belichtung durch Quarz. Im ganzen 12 Beobachtungen während des Verlaufes des Versuches.

3. Atmosphärische Luft, die während der Passage durch die große Quarzkammer belichtet wird, bewirkt keine Jodausscheidung in Jodkaliumstärkelösung.

4. Dagegen bewirkt die direkte Bestrahlung des Jodkaliumstärkepapiers bekanntlich bei Vorhandensein von Sauerstoff leicht eine Jodausscheidung; das nicht filtrierte Quecksilberquarzlampenlicht bewirkt fast augenblicklich eine kräftige Blaubraunfärbung; wird das Licht durch

---

[1]) E. Regener, Über d. chem. Wirk. kurzwelliger Strahlungen auf gasförmige Körper. Annal. d. Physik, IV. Folge, 20, 1906.

[2]) H. Kreusler, Annal. d. Physik, IV. Folge, 6, 1901.

Uviolglas filtriert, so erfolgt die Färbung in 1 bis 2 Minuten; hält man gewöhnliches Glas zwischen die Lampe und das Jodkaliumstärkepapier, so färbt letzteres sich gar nicht.[1]) Es handelt sich hier indes um eine direkte Lichtwirkung auf Jodkalium, eine Wirkung, die der Natur des Prozesses zufolge das Vorhandensein von Sauerstoff, nicht aber von Ozon voraussetzt. Hält man vor der in Luft (in der Fig. 2 abgebildeten Stellung) brennenden Lampe ein Stück feuchtes Jodkaliumstärkepapier parallel zum Quarzfenster und zwischen die Lampe und die obere Hälfte des Papiers ein Stück gewöhnliches Glas, so zeigt sich, daß die Jodausscheidung scharf auf den unteren Teil des Papiers begrenzt ist, obwohl die belichtete Luft zwischen dem Glase und dem Papier emporsteigt.

Der sog. „Ozongeruch" in der von der Quarzlampe belichteten Zimmerluft ist möglicherweise den Wirkungen des Ultraviolett auf die organischen Staubpartikelchen zu verdanken.[2])

Da wir bewiesen haben, daß die benutzte Lichtquelle die Luft nicht ozonisiert, und daß die durch dieselbe bewirkte Ionisierung für die Destruktion des Oxyhämoglobins keine Rolle spielt, gewinnt es an Wahr-

---

[1]) Dieses Verhalten ist später hier im Laboratorium benutzt worden, um leicht und sicher zu entscheiden, ob ein Stoff Quarz, Uviolglas oder gewöhnliches Glas ist. Verdeckt man ein Stück Jodkaliumstärkepapier (2 %, lösliche Stärke, 5 % JK) zum Teil durch ein Stück Quarz, und exponiert man es dem Lichte der Quecksilberquarzlampe (in der Entfernung von ein paar Zentimetern), so wird das Papier nach ca. 30″ überall ganz gleichmäßig braunblau sein; Uviolglas gibt nach 2′ eine hellbraune Abzeichnung auf blaubraunem Grunde, gewöhnliches Glas eine ganz weiße. — Die Reaktion wird, näheren Untersuchungen zufolge, die Herr cand. mag. H. M. Hansen hier im Laboratorium anstellte, bei der gegebenen Lichtquelle durch das Strahlengebiet 253,6 $\mu\mu$ bis ca. 230 $\mu\mu$, und zwar am kräftigsten durch die Strahlen um 253 $\mu\mu$ herum bewirkt. Sie eignet sich deshalb sehr wohl zu der genannten Untersuchung, da das Uviolglas bei ca. 253 $\mu\mu$ zu absorbieren beginnt.

[2]) Bordier und Nogier, deren Arbeit: Experimental researches on Kromayers Quarz-Mercury Lamp (Arch. of the Röntgen rays 1908, ref. in den Fortschr. a. d. Gebiete der Röntgenstr. 13, 1909) mir nur aus dem Referat bekannt ist, vermochten ebensowenig wie ich Ozonbildung durch die Quecksilberquarzlampe nachzuweisen, scheinen aber doch wegen des Geruchs dessen Vorhandensein zu behaupten. Da die Jodkaliumstärkereaktion indes eine ganz außerordentlich feine Ozonprobe ist, erscheint meine Erklärung des Geruchphänomens mir als die natürlichere.

Zur Erklärung der Methämoglobinbildung in (verdünntem) Blut, die auch Bordier und Nogier beobachteten, genügt eine Ozonbildung, die sich nicht durch Jodkaliumstärke nachweisen läßt, jedenfalls nicht; denn dazu ist eine energische und lange Behandlung mit verhältnismäßig enormen Ozondosen erforderlich (Binz).

30*

scheinlichkeit, daß der betreffende Prozeß als eine direkte Lichtwirkung zu betrachten ist. Wie bereits angedeutet, besteht die Wirkung in erster Linie in einer Methämoglobinbildung. Belichtetes Blut gibt ein Methämoglobinspektrum, das bei Reduktion mit Schwefelammonium in das Spektrum des reduzierten Hämoglobins hinüberschwingt; nach Schütteln mit atmosphärischer Luft bildet sich wieder Oxyhämoglobin.

Spektroskopische Untersuchung der Lichtwirkung auf Oxyhämoglobin.

Bei den folgenden spektroskopischen Untersuchungen benutzte ich ein geradsichtiges Spektroskop mit Wellenlängenskala, das vor dem Gebrauche stets sorgfältig auf die Natriumlinie bei 589 $\mu\mu$ eingestellt wurde. Die gefundenen Absorptionsstreifen sind durch die Wellenlänge der geschätzten maximalen Absorption angegeben. Diese Schätzung darf wohl kaum auf größere Genauigkeit als ± 2 $\mu\mu$ Anspruch machen; zum Erkennen der Farbstoffe ist diese Genauigkeit indes genügend. Da es mir nun gerade nur darum zu tun war, die Farbstoffe mittels deren Spektra zu erkennen, notierte ich nur die Lage der charakteristischen sichtbaren Absorptionsstreifen, dagegen nichts über die Totalabsorption am roten oder violetten Ende des Spektrums.

Die charakteristischen Absorptionsstreifen des äußersten Violett[1]) entzogen sich deshalb auch meiner Wahrnehmung.

Maximale Absorption	Meine Versuche	Lewin, Miethe und Stenger
Oxyhämoglobin	580, 540	579, 542, 415
Reduziertes Hämoglobin	560	559, 429
Kohlenoxydhämoglobin .	570, 540	570, 542, 416
Neutrales Methämoglobin	630, 580, 540, 500	626, 575, 533, 499, 410
Alkalisches Hämatin . .	615	616
Hämochromogen	555, 530	556, 530, 441

Es erweist sich, daß die maximale Absorption, die ich fand und als für die von mir untersuchten Blutfarbstoffe charakteristisch anwandte, laut der obenstehenden Zusammenstellung recht gut mit der von Lewin, Miethe und Stenger (l. c.) photographisch fixierten und ausgemessenen maximalen Absorption zusammenfällt. Nur zeigt sich in meinen Bestimmungen, wie zu erwarten, eine Tendenz zur Abrundung, bald nach oben, bald nach unten, die wahrscheinlich von Suggestion aus den Haupteinteilungen der Wellenlängenskala herrührt.

[1]) Siehe z. B. L. Lewin, A. Miethe und E. Stenger, Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschaften der Blutfarbstoffe des tierischen Körpers. Pflügers Archiv 118, 1907.

Wo sonst nichts bemerkt ist, wurden bei diesen Untersuchungen stets die kleinen ca. 3 ccm fassenden Quarzcuvetten (Fig. 3) mit 2,5 ccm der Blutfarbstofflösung angewandt. Für Kontrolluntersuchungen war es von Wichtigkeit, daß die beiden Cuvetten, womit ich arbeitete, ziemlich genau dasselbe Volumen und dieselben Dimensionen hatten.

Die spektroskopischen Veränderungen, die erfolgen, wenn eine Hämoglobinlösung der Belichtung mit oder ohne Luft durch Quarz und durch Glas ausgesetzt wird, gehen deutlich aus folgendem Versuche hervor.

12. Versuch vom 2. X. 08.

2% Blutlösung in dest. Wasser, am vorhergehenden Tage ausgepumpt, 60′ lang im Vakuum durch Quarz belichtet ohne Veränderung des reduzierten Hb.-Spektrums (595 bis 545; maximal bei 560) und ohne Ausscheidung.

Nach kurzer Zulassung der Atmosphäre Oxy-Hb.-Spektrum (580, 540); Belichtung 60′ lang in Luft durch Glas; nach 30′ schwaches Methb. (630), nach 60′ stärkeres Methb. und leichter Bodensatz.

Darauf Belichtung durch Quarz in Luft. Nach 6′ sehr kräftiges Methb. und Bodensatz; nach ferneren 6′ gräuliche Trübung, 630 undeutlicher; 12′ später: 630 immer undeutlicher, die Flüssigkeit bleicher, gelblich. Nach im ganzen dreistündiger Belichtung durch Quarz wasserklare Flüssigkeit mit gelbgrauem Bodensatz.

Die im 12. Versuch zusammengedrängten Beobachtungen über die Wirkung des Lichtes auf das Hämoglobin, die einzeln und im Verein in etwas über 100 auf verschiedene Weise variierten Versuchen wiederholt wurden, ergeben folgendes:

1. Das reduzierte Hämoglobin ist lichtbeständig.

2. Oxyhämoglobin wird durch Licht in Methämoglobin umgewandelt; dieses wird, wenn Sauerstoff vorhanden ist, unter Ausscheidung von Verbindungen, die in Wasser unlöslich sind, gespalten (s. u.). Die Wirkung ist an Strahlen von Wellenbreiten sowohl über als unter 310 $\mu\mu$ geknüpft, und zwar in ganz überwältigendem Maße an die letzteren.

Bei Belichtung einer von den Eiweißstoffen des Serums befreiten Oxyhämoglobinlösung, aus der man die Stromata abzentrifugiert hat, ändert sich der Verlauf der Lichtwirkung nur insofern, als die Ausscheidungen viel geringer werden und die Lösung während mehr als der dreifachen Zeit methämoglobinfarbig bleibt.

Im Bodensatz finden sich in beiden Fällen Hämatin und Albumin. Das Hämatin, das albuminfrei ist, läßt sich leicht nach Auflösung des ausgewaschenen Bodensatzes in ganz schwachem Alkali und Reduktion mit Schwefelammonium (oder Licht, s. u.) erkennen, indem hierdurch das charakteristische Spektrum des Hämochromogens erscheint (555 stark, 530 schwach); durch Schütteln mit atm. Luft wird Hämatin wieder rückgebildet.

Reindarstellung des Methämoglobins. Da das Hämatin in neutraler, salzarmer Flüssigkeit unlöslich ist,[1]) muß sich auf diese Wirkung des Lichtes eine Reindarstellung des Methämoglobins gründen lassen. Die hierzu üblichen Methoden, speziell die Ferricyankaliummethode, leiden bekanntlich an dem Übelstand, daß die Methämoglobinkrystalle sich nur sehr schwierig von Spuren des angewandten Methämoglobinbildners befreien lassen, was gelegentlich — Elementaranalyse, Lichtwirkung auf Methämoglobin (s. u.), spektroskopische Messungen — große Unannehmlichkeiten bereiten kann und auch bereitet hat.

Die einzige Schwierigkeit bei der Reindarstellung des Methämoglobins durch ultraviolettes Licht ist die Bestimmung des Zeitpunktes für die vollständige Umbildung des Oxyhämoglobins. Bei der von mir angewandten Anordnung — 30 ccm 5%iger gereinigter Blutkörperchenauflösung in der großen Quarzkammer — tritt dieser Zeitpunkt nach weniger als 30 Minuten ein; von einer entnommenen Probe erweist es sich dann durch Auspumpen, wodurch das Spektrum nicht geändert wird, daß sie Sauerstoff nur in derselben Menge wie destilliertes Wasser enthält.

Das Spektrum des Methämoglobins. Das Spektrum der solchergestalt dargestellten reinen Methämoglobinlösung zeigt in geeigneter Schichtdicke 3 bis 4 sichtbare Absorptionsstreifen auf: 1. den Streifen im Rot um 630 $\mu\mu$ herum, der für besonders charakteristisch gehalten wird; 2. und 3. die Streifen bei 580 und 540, die das Methämoglobin mit dem Oxyhämoglobin gemein hat, unter denen 540 aber der kräftigere ist und

[1]) V. Arnold, Ein Beitrag zur Spektroskopie des Blutes. Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 1900.

bei steigender Verdünnung mit 580 zugleich verschwindet, während hinsichtlich des Oxyhämoglobins 540 der weniger intensive ist und lange vor 580 schwindet; 4. in gewissen Schichtdicken erblickt man auch bei 500 $\mu\mu$ einen schwachen Streifen, der aus der allgemeinen Absorption am violetten Ende des Spektrums hervortritt.

Eine Beimischung von Oxyhämoglobin wird sich durch die spektrale Untersuchung allein natürlich nur schwierig erkennen lassen. Gibt aber die spektrale Untersuchung vor und nach dem Auspumpen in allen Beziehungen genau dasselbe Bild, so kann man mit großer Sicherheit behaupten, daß die Umbildung in Methämoglobin eine vollständige war. Denn eine Verunreinigung durch Oxyhämoglobin wird ziemlich leicht dadurch entdeckt werden, daß nach dem Auspumpen ein gemischtes Spektrum des Methämoglobins und des reduzierten Hämoglobins auftritt. Behandelt man eine Oxyhämoglobinlösung mit irgendeinem Methämoglobinbildner, z. B. mit Ferricyankalium, in so großer Menge, daß noch Spuren von Oxyhämoglobin zurückbleiben, d. h. hört man mit dem tropfenweisen Zusetzen des Methämoglobinbildners auf, bevor das Spektrum konstant geworden ist, so werden diese Spuren des Oxyhämoglobins sich leicht durch Entgasen der Lösung und durch Spektroskopie entdecken lassen. Bei dieser Gelegenheit war es von Bedeutung, daß die Konstruktion der Quarzcuvetten die spektroskopische Untersuchung in zwei Schichtdicken gestattet.

Otto[1]) setzt voraus, daß eine Lösung von Oxyhämoglobin während des Auspumpens zum Teil in Methämoglobin übergehe, und gründet hierauf eine Untersuchung über den Sauerstoffgehalt des letzteren. Mir ist es bei der von mir angewandten vorsichtigen Form des Auspumpens (keine Erwärmung, kein Säurezusatz) und bei den Oxyhämoglobinkonzentrationen, mit denen ich arbeitete, nicht vorgekommen, daß ich das Methämoglobin während des Auspumpens einer Oxyhämoglobinlösung in spektroskopisch erkennbarer Menge auftreten sah. Das Auspumpen einer Methämoglobinlösung mit Spuren von Oxy-

---

[1]) J. G. Otto, Studien über Methämoglobin. Pflügers Archiv 31, 1883.

hämoglobin wie oben würde schlimmstenfalls ja auch nur bewirken können, daß ein Teil des Oxyhämoglobins in Methämoglobin, der Rest aber in reduziertes Hämoglobin überginge.

Als Resultat meiner spektroskopischen Untersuchungen an Licht-Methämoglobin in Luft und im Vakuum muß ich feststellen, daß das Spektrum des durch Belichtung gebildeten Methämoglobins vier sichtbare Absorptionsstreifen enthält, bei 630, 580, 540 und 500 $\mu\mu$. Dasselbe gilt übrigens von dem aus folgenden Stoffen gebildeten Methämoglobin: Hydrochinon, Phenylhydrazin, Kaliumpermanganat, Ferricyankalium, Chloras kalicus, wie auch von dem durch Fäulnis und spontan, namentlich in der Wärme gebildeten Methämoglobin. Näheres hierüber unten.

Die Frage nach dem optischen Verhalten des reinen Methämoglobins in neutraler Flüssigkeit ist stark diskutiert worden. Die meisten Autoren, hierunter Hoppe-Seyler[1]), der Entdecker des Methämoglobins, Preyer[2]), Araki[3]) und Dittrich[4]) schreiben dem Methämoglobin nur den Absorptionsstreifen I (630 $\mu\mu$) zu und betrachten II und III (580 und 540 $\mu\mu$) als Zeichen der Verunreinigung durch Oxyhämoglobin; daß III bei Verdünnung so lange fortdauert, erklärt Dittrich dadurch, daß das Methämoglobin starke allgemeine Absorption im ganzen kurzwelligen Teil des Spektrums gebe, so daß die vom Oxyhämoglobin herrührende Verdunkelung, Linie III, hierdurch verstärkt werde. Arakis Argumentation dafür, daß nur die Linie I dem Methämoglobin charakteristisch sei, ist von Interesse. In einer zugeschmolzenen Röhre, die Methämoglobinlösung und ein wenig Luft enthält, verschwinden wegen bakterieller Einwirkung erst II und III, indem sie zu einem reduzierten Hämoglobinstreifen zusammenfließen; erst durch Schütteln mit der darüber stehenden Luft kommen II und III wieder zum Vorschein. Erst lange nachdem II und III durch Fäulnis zum Verschwinden gebracht worden sind und nicht mehr durch Schütteln mit der obenstehenden Luft zum Vorschein kommen, verschwindet auch I, so daß das Ganze reduziertes Hämoglobin ist. Araki schließt hieraus, daß ursprünglich eine Mischung aus Methämoglobin (Streifen I) und Oxyhämoglobin (II und III) vor-

---

[1]) F. Hoppe-Seyler, Weitere Mitt. über die Eigenschaften des Blutfarbstoffes. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 1878.

[2]) W. Preyer, Über einige Eigenschaften des Hämoglobins und des Methämoglobins. Pflügers Archiv 1, 1868.

[3]) T. Araki, Über den Blutfarbstoff und seine näheren Umwandlungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 1890.

[4]) P. Dittrich, Über methämoglobinbildende Gifte. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29, 1892.

handen gewesen sei; erst sei das Oxyhämoglobin durch den Sauerstoffverbrauch der Bakterien reduziert worden; nach der Reduktion des sämtlichen Oxyhämoglobins und nach Verbrauch des sämtlichen Sauerstoffs werde schließlich auch das Methämoglobin reduziertes Hämoglobin. Man kann ebensowohl aus diesem nur wenig überzeugenden Versuche schließen, daß ursprünglich reines Methämoglobin vorhanden gewesen sei (I, II, III), das durch die Wirkung der Bakterien allmählich reduziert (und durch Schütteln mit dem zurückgebliebenen Sauerstoff vorübergehend in Oxyhämoglobin umgebildet) worden sei, daß die Linie I während der fortschreitenden Reduktion aber die beharrlichste sei. Hierfür sprechen meine unten angeführten Beobachtungen über die Wirkung der Belichtung auf ausgepumpte Methämoglobinlösung.

Menzies[1]) und Lewin, Miethe und Stenger[2]) betrachten nur I und IV als für das Methämoglobin charakteristisch; II und III seien dem Oxyhämoglobin zu verdanken.

Bertin-Sans[3]) und Ziemke und Müller[4]) schreiben ebenso wie ich dem Methämoglobin sämtliche vier besprochenen sichtbaren Absorptionstreifen zu.

Der Sauerstoffgehalt des Methämoglobins. Nachdem Hoppe-Seyler[5]) 1864 das Methämoglobin entdeckt hatte, blieb es etwa 20 Jahre lang unentschieden ob der neue Stoff als ein Peroxyd oder ein Suboxyd des Oxyhämoglobins zu betrachten sei. Es stand fest, daß das Methämoglobin keinen Sauerstoff an das Vakuum abgab; daß es Sauerstoff in chemischer Bindung enthielt, ging daraus hervor, daß es durch Reduktionsmittel in reduziertes Hämoglobin überging; seine Bildung aus Oxyhämoglobin sowohl durch Oxydationsmittel als durch Reduktionsmittel und wohl auch durch sonst chemisch indifferente Stoffe erzeugte aber schwankende Auffassungen mit Bezug auf die Menge des im Methämoglobin fest gebundenen Sauerstoffes. Im Jahre 1881 gelang es zum erstenmal Hüfner[6]) im Verein mit Otto, das Methämoglobin krystallinisch darzustellen; sie machten die Beobachtung, daß der Sauerstoff des Methämoglobins, der weder an das Vakuum noch an einen Kohlenoxydstrom abgegeben wird, sich durch Stickoxyd, NO, verdrängen läßt. Hierauf gründeten Hüfner und Külz[7]) ihre quantitative Methode zur

---

[1]) J. A. Menzies, On Methaemoglobin. Journ. of Physiol. 17.

[2]) l. c.

[3]) Bertin-Sans, Sur le spectre de la méthémoglobine acide. Compt. rend. 106, 1888.

[4]) E. Ziemke und F. Müller, Beiträge zur Spektroskopie des Blutes. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1901, Suppl.

[5]) F. Hoppe-Seyler, Virchows Archiv 29. Zit. nach J. G. Otto, Studien über Methämoglobin. Pflügers Archiv 31, 1883.

[6]) G. Hüfner und J. Otto, Über krystallinisches Methämoglobin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 1882.

[7]) G. Hüfner und R. Külz, Über den Sauerstoffgehalt des Methämoglobins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 1883.

Bestimmung des Sauerstoffgehalts des Methämoglobins; sie verglichen die Mengen Stickstoff, die aus gleich starken Oxyhämoglobin- und Methämoglobinlösungen durch Schütteln mit gleichen Mengen von Harnstoff und NO befreit werden; an diesem Prozesse ist nämlich der vorhandene Sauerstoff beteiligt. Es erwies sich nun, daß durchschnittlich gleich große Mengen N befreit wurden, und daß sich also im Oxy- und im Methämoglobin die gleichen Sauerstoffmengen fanden. Fast um dieselbe Zeit kam Otto[1]) zu demselben Resultat auf einem anderen Wege mittels folgender Methode. Wie oben genannt, findet während des Auspumpens einer schwachen Oxyhämoglobinlösung — bei der von Otto angewandten Technik wenigstens — eine partielle Umbildung in Methämoglobin statt. Otto bestimmte nun vor dem Auspumpen die Stärke der Oxyhämoglobinlösung auf spektrophotometrischem Wege und berechnete hieraus deren Sauerstoffgehalt. Nach dem Auspumpen fand er nun einen bedeutend geringeren Sauerstoffgehalt (der genau der nach Auspumpen und Schütteln mit Luft spektrophotometrisch bestimmten Oxyhämoglobinmenge entsprach). Der Rest des Sauerstoffes, der während des Auspumpens bei der Methämoglobinbildung festgehalten wurde, war somit bekannt; die gebildete Methämoglobinmenge läßt sich spektrophotometrisch bestimmen.

Während die genannten Forscher darin übereinstimmen, daß der Sauerstoff im Methämoglobin in derselben Menge wie im Oxyhämoglobin, jedoch in festerer Bindung, vorhanden ist, haben namentlich Haldane[2]) und v. Zeynek[3]) sich mit der näheren Beschaffenheit dieser „festeren“ Sauerstoffbindung beschäftigt. v. Zeynek meint, es spreche vieles dafür, daß im Methämoglobin zwei Hydroxylgruppen an das Hämoglobinmolekül gebunden seien, im Oxyhämoglobin dagegen ein einziges Sauerstoffmolekül. Haldane behauptet, es sei überhaupt zweifelhaft, ob die Bindung des Sauerstoffs an das Hämoglobin im Methämoglobin „fester“ sei als im Oxyhämoglobin; das Methämoglobin gebe allerdings an das Vakuum seinen Sauerstoff nicht ab, viel leichter aber als das Oxyhämoglobin an chemische Reduktionsmittel. Haldane erklärt diesen und einige andere Umstände einfach durch die Annahme, der Sauerstoff sei im Methämoglobin atomisch, im Oxyhämoglobin aber molekular gebunden. Man könnte durch ein anderes Bild das Verhalten vielleicht so ausdrücken, daß das Methämoglobin Hämoglobinoxyd, das Oxyhämoglobin dagegen Hämoglobin mit adsorbiertem Sauerstoff sei.

Auch von dem durch Licht gebildeten Methämoglobin gilt es, daß es sich leichter reduzieren läßt als das Oxyhämoglobin, z. B. durch

---

[1]) J. G. Otto, Studien über Methämoglobin. Pflügers Archiv 31, 1883.

[2]) J. Haldane, A contribution to the chemistry of haemoglobin and its immediate derivations. Journ. of Physiol. 22, 1897—98.

[3]) R. v. Zeynek, Neue Beobachtungen und Versuche über das Methämoglobin und seine Bildungsweise. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1899.

Schwefelammonium. Was die Menge des Sauerstoffs im Methämoglobin betrifft, fand ich in einem einzelnen Versuche, daß die Umbildung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin durch Belichtung ohne irgendwelche Druckänderung der darüberstehenden atm. Luft erfolgt, mit der die Flüssigkeit während der Belichtung im Diffusionsgleichgewicht erhalten wird.[1])

13. Versuch vom 6. I. 09.

20 ccm 4 % gereinigter Blutkörperchenauflösung in der großen Quarzkammer, atm. Luft, Wassermanometer. Belicht. durch Quarz 5′. Obs. nach 1′, 2′ und 5′. Steigende Methämoglobinbildung, nach 5′ fast total. Keine Druckänderungen nach Korrektion der Temperaturänderung während des Versuches.

Im 13. Versuch sieht man eine fast totale Umbildung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin ohne Druckänderung in der darüberstehenden Luft. Vor der Belichtung fanden sich ca. 0,5 ccm Sauerstoff an das Hämoglobin gebunden; wäre bei der Umbildung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin z. B. mehr Sauerstoff als diese 0,5 ccm verbraucht worden, so müßte unter den gegebenen Verhältnissen der Druck in der Luft über dem Blute für je ca. 0,008 ccm ferner verbrauchten Sauerstoffes um 1 mm Wasser gesunken sein. In entsprechender Weise würde ein Steigen des Druckes das Maß einer stattgehabten Suboxydbildung abgeben. Daß der Druck in der Tat konstant geblieben ist, stimmt sehr wohl mit dem von den obengenannten Forschern geleisteten Nachweis überein, daß es sich bei der Bildung von Methämoglobin aus Oxyhämoglobin nicht um eine Peroxyd- oder Suboxydbildung, sondern um eine Umlagerung von Sauerstoffatomen im Hämoglobinmolekül handelt.

Umbildung des Methämoglobins im Lichte. Es wurde bereits erwähnt, daß das Methämoglobin bei Vorhandensein von Sauerstoff in Hämatin und Albumin zerfällt, die ausgeschieden werden, so daß die zentrifugierte Auflösung bei genügend langer Belichtung ganz farblos wird.

Bei der Belichtung im Vakuum einer entgasten Auflösung alten Blutes, das bei beginnender Fäulnis methämoglobinhaltig geworden war, bemerkte ich, daß das Spektrum, das vor der Belichtung aus Absorptionsstreifen reduzierten Hämoglobins und des Methämoglobins zusammengesetzt war, während der Belichtung (durch Quarz) das Spektrum eines reinen redu-

---

[1]) Diese Untersuchung sollte man nicht länger fortsetzen, als bis zur beginnenden Ausscheidung in der Flüssigkeit, die ein geringes Sinken des Druckes zu bewirken scheint. Deshalb sollte die Oxyhämoglobinlösung von Serum frei sein, und deshalb sollte man auch die Methämoglobinbildung durch einen Uviolglasfilter vor der Lampe verzögern.

zierten Hämoglobins wurde, indem erst die Linien 580 und 540 zu dem breiten Streifen 595—545 mit Maximum 560 zusammenflossen und darauf 630 allmählich verschwand.

Ich untersuchte nun mittels der Belichtung im Vakuum Methämoglobinlösungen, die auf verschiedene Art gebildet worden waren: durch Belichtung, durch Kaliumnitrit, Kaliumpermanganat, chlorsaures Kali, Hydrochinon, Phenylhydrazin und durch Fäulnis.

Bei diesen Untersuchungen kam stets eine 5%ige Lösung gereinigter Blutkörperchen in destilliertem Wasser zur Anwendung nebst Zusatz von so viel des methämoglobinbildenden Stoffes, daß das Spektrum sich bei weiterem Zusatze eben nicht zu verändern schien; eventuell Zentrifugieren; Entgasung und Übertragung in kleine evakuierte Quarzcuvetten, gleich darauf Spektroskopie und Belichtung (durch Quarz), die alle 5 Minuten unterbrochen wurde, um die Reaktion spektroskopisch verfolgen zu können.

Mit jedem der genannten Methämoglobinbildner wurden 2 bis 4 Versuche unternommen, deren Ergebnis, mit der unten besprochenen unwesentlichen Beschränkung, ganz übereinstimmend war. Als Beispiel führe ich folgenden Auszug aus dem 14. Versuch mit Methämoglobin an, das durch drei verschiedene Mittel aus Oxyhämoglobinlösung gebildet worden war.

14. Versuch vom 10. XI. 08.[1])

5% Blutkörperchenauflösung in H_2O. Nach Methämoglobinbildung Zentrifugieren und Entgasung. Belichtung durch Quarz in kleinen Quarzcuvetten.

Nach Bel.	a) Kalium-permanganat-Methämoglobin	b) Hydrochinon-Methämoglobin	c) Licht-Methämoglobin
0′	Methb. I, II, III + Hb.	Methb. I, II, III, Kein Hb.	Methb. I, II, III + Hb. (?)

[1]) Im 14. Versuch bezeichnen I, II, III die drei ersten Absorptionsstreifen des Methämoglobins bei 630, 580, 540 $\mu\mu$; Hb. das Spektrum des reduzierten Hämoglobins, das unter den gegebenen Verhältnissen einen Absorptionsstreifen von 595 bis 545 $\mu\mu$ mit dem Maximum bei 560 $\mu\mu$ darbot; Hb. geteilt, daß II und III nebst dem Hb. zugleich sichtbar sind. Dünne Schicht mißt 5 mm, dicke Schicht 25 mm. Die wichtigsten Beobachtungen sind hervorgehoben.

Nach Bel.	a) Kalium-permanganat-Methämoglobin	b) Hydrochinon-Methämoglobin	c) Licht-Methämoglobin
5′	I schwächer, Hb. breitet sich aus, ist aber geteilt	I schwächer, Hb. stark, aber geteilt	I ein wenig schwächer, Hb. breitet sich aus, ist aber geteilt
10′	I schwindend, Hb. geteilt	I schwindend, Hb. ungeteilt	I schwächer, Hb. geteilt
15′	do. do.	I geschwunden in dünner, sichtbar in dicker Schicht, Hb. ungeteilt	I sichtbar, Hb. ungeteilt
20′	I geschwunden in dünner, sichtbar in dicker Schicht, Hb. angedeutet geteilt	I Spuren in dicker Schicht, Hb. ungeteilt	do. do.
25′	do. do.	I geschwunden in dicker Schicht, Hb. ungeteilt	I geschwunden in dünner, sichtbar in dicker Schicht, Hb. ungeteilt
60′	I geschwunden in dicker Schicht, Hb. angedeutet geteilt	do. do.	I geschwunden in dicker Schicht, Hb. ungeteilt

Nach Zutritt der Atmosphäre und Schütteln in allen Fällen reines Oxyhämoglobinspektrum. Darauf Belichtung durch Quarz 5′ lang: starke Methämoglobinbildung und Trübung. — Kontrollproben, die ohne Belichtung im Vakuum aufbewahrt worden waren, zeigten keine Änderung des Spektrums während der Versuchsdauer.

Die Hauptwirkung der Belichtung des Methämoglobins im Vakuum ist also ganz klar: das Methämoglobin wird in reduziertes Hämoglobin umgebildet. Nur dem Anschein nach zeigt sich einiger Unterschied des Verlaufes der Reaktion bei den verschiedenen Methämoglobinbildnern. Dieser Unterschied rührt von dem Schicksal des abgespaltenen Sauerstoffs her. Wo das Methämoglobin durch reduzierende Stoffe, die den abgespaltenen Sauerstoff aufzunehmen vermögen, gebildet worden ist — und sich während der Belichtung mit solchen Stoffen zusammen befindet —, da erfolgt die Reduktion geschwind und bleibt der Hämoglobinstreifen ungeteilt; dies ist in meinen Versuchen der Fall

mit dem durch Hydrochinon, Phenylhydrazin und durch Fäulnis gebildeten Methämoglobin. Wo sich keine solche Sauerstoffreceptoren vorfinden — Chloras kalicus, Kaliumpermanganat, Kaliumnitrit — da wird der abgespaltene Sauerstoff sich mit dem reduzierten Hämoglobin zu Oxyhämoglobin verbinden, und letzteres wird im Lichte in Methämoglobin umgewandelt werden: kurz, es wird sich irgend ein von vielen Faktoren bedingter Gleichgewichtszustand einstellen, wo reduziertes Hämoglobin und Oxyhämoglobin, eventuell Spuren von Methämoglobin zusammen gefunden werden.

Durch mehrere Versuche habe ich festgestellt, daß der während der Belichtung im Vakuum z. B. aus Licht-Methämoglobin abgespaltene Sauerstoff sich im Dunkeln mit Hämoglobin zu Oxyhämoglobin vereinigte.

Biologische Bedeutung. Die Wirkung des Lichtes auf den nativen Blutfarbstoff *in vitro* besteht also darin, daß das Oxyhämoglobin in Methämoglobin umgebildet wird, und daß letzteres bei Vorhandensein von Sauerstoff sich u. a. in neutrales Hämatin, ohne Sauerstoff in red. Hämoglobin umwandelt. Da wenigstens die erstere dieser Wirkungen, die Methämoglobinbildung, *in vitro* in meßbarem Umfang bei Licht erfolgt, das gewöhnliches Glas passiert hat (siehe oben S. 441 bis 442), könnte es von biologischem Interesse sein, zu erfahren, ob auch das durch tierisches Integument filtrierte Licht auf diese Weise zu wirken vermag.

15. Versuch vom 7. X. 08.

30 ccm einer 2°/₀ igen Blutkörperchenauflösung in der großen Quarzkammer mit atm. Luft durch soeben abgezogene, entfettete und kurzgeschorene weiße Mäusehaut belichtet. Nach 40′ deutliches Methämoglobin, nach 2^h kräftiges Methämoglobin. Bei Kontrollversuchen kein Methämoglobin nach 2^h 15′ langer Rotation im Dunkel bei derselben Temperatur, 15°.

Der Versuch am 8. X. mit demselben Ergebnis wiederholt.

Eine $2^0/_0$ige Blutkörperchenauflösung läßt sich also durch das Licht der Quecksilberquarzlampe, das durch eine weiße Mäusehaut filtriert ist, zum Teil in Methämoglobin umbilden. Tierversuche habe ich vorläufig noch nicht unternommen.

Linser[1]) teilte mit, daß im Harn eines Mannes, dessen Haut der

[1]) Kongreß der deutschen dermatol. Gesellschaft in Bern. Ref. im Arch. f. Derm. u. Syph. 82, 1906.

Sitz einer universellen Lichtentzündung war, das Hämatoporphyrin in größerer Menge als normal vorkam. Linser meint, es sei hier von einer Lichtwirkung auf das Oxyhämoglobin des Blutes in den Hautgefäßen die Rede. Ich vermochte durch meine Belichtungen von Blut außerhalb des Organismus keine Bildung von Hämatoporphyrin festzustellen; da dieser Stoff aber ein Abspaltungsprodukt des Hämatins ist, das sich ja in meinen Versuchen bildet, gibt es die theoretische Möglichkeit, daß sowohl Linsers Beobachtung als auch seine Erklärung derselben richtig wäre. Vgl. doch die unten mitgeteilte Beobachtung über die Wirkung des Lichtes auf alkalische Hämatinlösung.

Frühere Untersuchungen über die Lichtbeständigkeit des Oxyhämoglobins. v. Zeynek[1]) bemerkt in seiner Besprechung von Bocks „Photomethämoglobin", worüber näheres unten, daß diese Lichtwirkung auf das durch Ferricyankalium gebildete Methämoglobin lebhaftes Interesse erregt habe, um so mehr, „als dieses Blutfarbstoffderivat das einzige gegen Lichtwirkung nicht beständige zu sein schien". v. Zeynek glaubt nun, dargetan zu haben, daß das reine Methämoglobin in der Tat wie alle anderen Blutfarbstoffe lichtbeständig sei. Diese Charakteristik der Lichtbeständigkeit der Blutfarbstoffe ist nicht älter als aus dem Jahre 1901.

Hertel[2]) kann 1904 indes mitteilen, daß Licht von der Wellenlänge ca. 280 $\mu\mu$ eine Wirkung auf Blut und Blutlösungen in dünnen Schichten übt, die er als eine Reduktion des Oxyhämoglobins in reduziertes Hämoglobin charakterisieren zu können glaubt. Er äußert sich (l. c. S. 33) wie folgt: „Ich konstatierte bei allen Versuchen in einwandfreier Weise ein Verschwinden der vorher gut sichtbaren Oxyhämoglobinlinien. Die Linien wurden je nach der Dicke der Blutschicht nach 20 bis 40 Sekunden schon undeutlich und verschwommen. Nach 5 bis 7 Minuten waren beide Linien meist nicht mehr sichtbar, wobei die nach *E* hin liegende β-Linie etwas eher verschwunden war als die andere. Nach 10 bis 12 Minuten Strahlzeit sah ich öfter einen schwachen Hämoglobinstreifen (reduziertes Hämoglobin) auftreten".

Nach dem Resultat meiner Untersuchungen fällt es nicht gar zu schwer, diesen Befund zu analysieren. Hertel arbeitete mit einer kleinen, eingeschlossenen Oxyhämoglobinmenge, deren Konzentration es ihm gestattete, vor der Belichtung das zweistreifige Absorptionsspektrum des Oxyhämoglobins zu beobachten. Nun ist es bekannt, daß zur Wahrnehmung des Spektrums des Methämoglobins (wie auch des Spektrums des reduzierten Hämoglobins) eine bedeutend größere Blutfarbstoffkonzentration — oder größere Schichtdicke — erforderlich ist als zum Unterscheiden des Spektrums des Oxyhämoglobins. Deshalb war Hertel nicht

---

[1]) R. v. Zeynek, Über krystallisiertes Cyanhämoglobin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 1901.

[2]) E. Hertel, Über Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. Zeitschr. f. allg. Physiol. 4, 1904.

imstande, die Methämoglobinbildung zu bemerken, die zweifelsohne auch in seinem Falle stattgefunden hat. Daß die Begrenzung der Oxyhämoglobinlinien nach einer gewissen Strahlzeit verschwamm, ist anwachsenden Ausscheidungen, u. a. des Hämatins, zu verdanken. Ausgeschlossen ist es nicht, daß der Absorptionsstreifen des reduzierten Hämoglobins, den Hertel „öfter" und mehr oder weniger „deutlich" gewahrte, reell gewesen sein kann, da seine Versuchsanordnung dem Sauerstoff den Zutritt verwehrt und deshalb einige Reduktion des Methämoglobins herbeigeführt haben kann.

Als ich Hertels Versuche nachahmte, indem ich die Quecksilberquarzlampe benutzte und die Blutlösung in eine keilförmige Quarzkammer einschloß, so daß ich dieselbe in verschiedenen Schichtdicken spektroskopieren konnte, ließen die meisten von Hertels Beobachtungen sich in aufklärender Weise wiederholen. Die Konzentration der Oxyhämoglobinlösung wählte ich so, daß in den dünnsten Schichten die beiden Oxyhämoglobinstreifen, in den dickeren nur eine gesammelte Absorption von Gelb bis Violett deutlich erkennbar war. Nach Belichtung durch Quarz gibt ein solches Präparat erstens gräuliche Beläge an der inneren Seite der belichteten Quarzplatte und infolgedessen Unschärfe des spektroskopischen Bildes, zweitens in den dünnen Schichten nur die mehr oder weniger verschwimmenden Linien II und III, in den dicksten Schichten die Linie I, während II und III ineinander fließen, in den mittleren sehr schön das ganze Spektrum des Methämoglobins, wo III mehr intensiv als II ist und IV sich deutlich erkennen läßt. Einen „Reduktionsstreifen" vermochte ich freilich nur durch Belichtung von Methämoglobin im Vakuum nachzuweisen. — Bordier und Nogiers Nachweis einer Methämoglobinbildung in verdünntem Blute durch Bestrahlung mittels der Quecksilberquarzlampe wurde oben erwähnt (S. 453, Anm.).

Die Wirkung des Lichtes auf Hämatin in alkalischer Lösung. Das nicht filtrierte Quarzlampenlicht bewirkt schon im Laufe einer Minute beginnende Hämochromogenbildung in einer Hämatinlösung, die dadurch hergestellt worden war, daß ich eine 2 %ige Blutkörperchenauflösung ohne Stromata mit $^1/_{20}$ Vol. 10 %iger Natronlauge bis auf den Siedepunkt erhitzte. Der einzelne Absorptionsstreifen des alkalischen Hämatins um 615 $\mu\mu$ herum verschwindet, und es erscheint das sehr charakteristische Spektrum des Hämochromogens mit dem dunklen und scharf begrenzten Absorptionsstreifen um 555 $\mu\mu$ und dem breiteren und schwächeren um 530 $\mu\mu$ herum. Ein Glasfilter vor der Lampe verzögert die Reaktion stark: in einem Versuche um ca. die 15 fache Zeit. Bei Aufhebung im Dunkeln kehrt das Hämatinspektrum wieder zurück, erneute Belichtung bewirkt wieder Hämochromogen-

bildung usw., in einem Versuche konstatierte ich diesen Wechsel im ganzen 10 mal mit unveränderter Präzision. Das Hämochromogen scheint lichtbeständig zu sein; selbst bei stundenlanger Belichtung bleibt sein Spektrum unverändert und seine Auflösung klar; eine Umbildung in Hämatoporphyrin (s. o.) durch Belichtung vermochte ich nicht zu erkennen.

Die Wirkung des Lichtes auf Hämatin in alkalischer Lösung hat also einen sehr einfachen Mechanismus. Dieser besteht in einer Abspaltung des Sauerstoffes aus dem Hämatin und verläuft deshalb noch schneller im Vakuum als in Sauerstoff, in einem Versuche ca. 7 mal so geschwind im Vakuum als in atm. Luft.[1]) Das Vorhandensein leicht oxydierbarer Stoffe fördert daher den Prozeß auch in wesentlichem Maße (s. u.), und dieser läßt sich unter solchen Umständen nicht rückgängig machen.

Bertin-Sans und Moitessier[2]) glauben die Existenz einer Art von Zwischenstadium zwischen Hämatin und Hämochromogen, „reduziertes Hämatin“ mit einem Absorptionsstreifen etwa bei 590 $\mu\mu$ nachgewiesen zu haben; dasselbe sollte durch Reduktion des Hämatins in albuminfreier oder ammoniakfreier Flüssigkeit entstehen und durch Zusatz von ein wenig Albumin, Amid oder Ammoniak in Hämochromogen umgebildet werden. Beachtenswert ist, daß eine Hämatinlösung, die man aus 6 mal gereinigten Blutkörperchen hergestellt hat, welche nachweisbar von der letzten Spur der Eiweißstoffe des Serums und nach Auflösung in destilliertem Wasser vor dem Kochen mit Alkali durch Stehen und Zentrifugieren von den Stromata befreit worden sind, durch Belichtung direkt in Hämochromogen und dieses im Dunkel direkt in Hämatin übergeht, ohne daß ein Zwischenstadium spektroskopisch nachweisbar ist. Bertin-Sans' „reduziertes Hämatin“ trägt daher seinen Namen wohl kaum mit Recht und ist vielmehr als ein Spaltungsprodukt des Hämochromogens aufzufassen.

Die Wirkung des Lichtes auf Kohlenoxydhämoglobin. Die Unbeständigkeit des Kohlenoxydhämoglobins wurde von Haldane und Smith[3]) nachgewiesen, insofern diese Forscher beobachteten, daß eine Mischung aus Oxyhämoglobin und Kohlenoxydhämoglobin, in einen Glasbehälter eingeschlossen,

---

[1]) Die gewöhnliche Anordnung: kleine Quarzcuvetten von 3 ccm Volumen mit 2,5 ccm Flüssigkeit.

[2]) H. Bertin-Sans und J. Moitessier, Oxyhématine, hématine réduite et hémochromogène. Compt. rend. 116, 1893.

[3]) J. Haldane und J. L. Smith, The oxygen tension of arterial blood. Journ. of Physiol. 20, 1896.

im Tageslicht verblaßt und im Dunkel ihre ursprüngliche Farbe wieder erhält. H. und S. nehmen mit gutem Grunde an, die Lichtreaktion beruhe darauf, daß die Affinität zwischen Hämoglobin und Kohlenoxyd im Lichte geringer sei als im Dunkel. Um die Sache näher zu untersuchen, namentlich mit Bezug auf reines Kohlenoxydhämoglobin, verglichen mit einer Mischung aus diesem Stoffe und Oxyhämoglobin, unternahm ich folgenden Versuch.

16. Versuch vom 5. I. 09.

Eine 4%ige Auflösung gereinigter Blutkörperchen ohne Stromata 1/2 Stunde im CO-Strom behandelt (letzteres erhalten durch Erhitzung von Oxalsäure + Schwefelsäure, Auswaschen mit KOH und Wasser). Zusatz von gleichen Teilen lufthaltigen destillierten Wassers. Damit eine Quarzcuvette (a) gefüllt; der Rest wieder im CO-Strom bis zur Sättigung, hiermit eine andere Cuvette (b) gefüllt. Belichtung durch Quarz.

Bel. Min. 0	a $CO—Hb+O_2—Hb$	b CO—Hb
5′	Große Ausscheidungen. Das Methb. kräftig. Die CO—Hb-Linien deutlich.	Kein Methb. Die CO—Hb-Linien deutlich.
10′		Kein Methb. Die CO—Hb-Linien schwächer. Die Flüssigkeit blasser.
80′		Kein Methb. Die CO—Hb-Linien deutlich erkennbar in einer breiteren Verdunkelung. Die Flüssigkeit etwas blasser.

Eine Wiederholung des Versuches 16 b mit der Modifikation, daß einer entgasten Hämoglobinlösung analysiertes reines Kohlenoxyd zugesetzt wurde, gab dasselbe Resultat: die Belichtung hatte keinen Methämoglobinstreifen zur Folge, doch veränderte sich das CO—Hb-Spektrum bei einigem Erblassen ohne Ausscheidung in derselben Richtung, d. h. die CO—Hb-Streifen (570 μμ, 540 μμ) wurden schwächer und zeichneten sich auf dem Hintergrunde einer leichten Verdunkelung ab, die an Umfang dem reduzierten Hämoglobin entsprach. Die Wirkung stellte sich bei dem nicht filtrierten etwas schneller als bei dem durch Glas filtrierten Lichte ein, war aber doch nicht in so durchaus vorherrschendem Maße wie die früher untersuchten Reaktionen an die äußeren ultravioletten Strahlen gebunden. Im Dunkel kam die ursprüngliche Farbe und somit das reine CO—Hb-Spektrum in vollem Umfange wieder zurück (Vergleich mit dem Kontrollpräparat). Nach Zulassen der Atmosphäre und nach erneuter Belichtung stellte sich die Methämoglobinbildung sofort ein.

Bei Belichtung von Kohlenoxydhämoglobin, das mittels der Durchleitung von Leuchtgas durch eine Oxyhämoglobinlösung dargestellt worden war, bildeten sich Spuren von Methämoglobin. Hieraus darf man schließen, daß die Lösung ein wenig Oxyhämoglobin enthalten hat.

Es ist hervorzuheben, daß bei Belichtung sauerstofffreien Kohlenoxydhämoglobins kein der Methämoglobinlinie I entsprechender Absorptionsstreifen auftrat.

Weyl und v. Anrep[1]) haben nämlich den Begriff des Kohlenoxydmethämoglobins aufgestellt, der sicherlich wohl auf einer Mißdeutung beruht. Von der theoretischen Unwahrscheinlichkeit einer solchen Verbindung ganz abgesehen (s. u.), behaupteten Bertin-Sans und Moitessier[2]) mit Recht, daß das Vorhandensein von Kohlenoxyd in dem Augenblicke, wo sich das Methämoglobin durch Ferricyankalium bildet, ein unwesentlicher Umstand ist: das Methämoglobin bildet sich ebensowohl im Vakuum aus Ferricyankalium und reduziertem Hämoglobin. Hiervon überzeugte ich mich ebenfalls. Wird das gebildete Methämoglobin darauf mit Schwefelammonium behandelt, so wird das reduzierte Hämoglobin sich mit möglicherweise vorhandenem Kohlenoxyd zu CO—Hb verbinden, hierin liegt aber keine Berechtigung, das Methämoglobin als Kohlenoxydmethämoglobin zu bezeichnen.

Gäbe es eine derartige, durch genau dieselbe Absorption im Rot um 630 herum wie das Methämoglobin gekennzeichnete Verbindung, so würde man einigen Grund haben, deren Auftreten als Folge der Belichtung einer reinen Kohlenoxydhämoglobinlösung in einer Kohlenoxydatmosphäre zu erwarten. Dies ist dem Obenstehenden zufolge nicht der Fall; die Bildung des Methämoglobins, auch bei Licht, ist durch das Vorhandensein von Sauerstoff in molekularer oder atomischer Gestalt bedingt.

Gröber[3]) wies vor kurzem nach, daß bei Belichtung einer Kohlenoxydhämoglobinlösung (die wegen ihrer Herstellung doch wohl kaum sauerstofffrei war), der man eine Spur von Ferricyankalium zusetzte, mittels einer Nernstlampe sich eine spektroskopisch erkennbare (Kohlenoxyd-)Methämoglobinbildung weit schneller einstellte als im Dunkel oder in rotem Lichte. Diese Beobachtung, die in der Tat mit der früher von Quincke[4]) gemachten übereinstimmt, daß Methämoglobinbildung mittels chlorsauren Kalis im Sonnenlichte bedeutend schneller als im Dunkel erfolgt, läßt sich leicht mit meinem Nachweis, daß das Licht an und für sich die Methämoglobinbildung begünstigt, wenn Sauerstoff vorhanden ist, in Einklang bringen. In Gröbers Beobachtung findet sich aber

---

[1]) Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1880.

[2]) H. Bertin-Sans und Moitessier, Sur la transformation de l'hémoglobine oxycarbonée en méthémoglobine. Compt. rend. 113, 1891.

[3]) A. Gröber, Über den Einfluß des Lichtes auf die Bildung von Kohlenoxydmethämoglobin. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 58, 1908.

[4]) Quincke, Über den Einfluß des Lichtes auf den Tierkörper. Pflügers Archiv 57, 1894.

keine Stütze für die Annahme, daß der gebildete Stoff Kohlenoxyd-Methämoglobin sein sollte.

Nach der Kenntnis der Methämoglobinbildung durch Ferricyankalium, die wir den Arbeiten von Haldane[1]) und von v. Zeynek[2]) verdanken, bewirkt der Zusatz des letzteren Stoffes zur Oxyhämoglobinlösung, daß der im Oxyhämoglobin molekular gebundene (oder, wie ich es ausdrücke: *adsorbierte*) Sauerstoff entweicht, während das Hämoglobin durch das Ferricyankalium, das selbst zu Ferrocyankalium reduziert wird, eine „Oxydation" erleidet. Man kann sich nicht leicht vorstellen, wie das Vorhandensein von CO [das man sich ja als an das Hämoglobinmolekül „adsorbiert" zu denken hat[3])] auf das Endresultat dieser Reaktion, die Methämoglobinbildung, sollte einwirken können.

Alles in allem ist deshalb das durch dasselbe Spektrum wie das Methämoglobin spektroskopisch bestimmte „Kohlenoxydmethämoglobin" als eine Fiktion zu betrachten.

Cyanhämoglobin. Die erste Mitteilung über eine Lichtwirkung auf ein Hämoglobinderivat verdanken wir Bock[4]), der 1895 die Veränderung der Farbe und des Spektrums beschrieb, die eine durch Ferricyankalium gebildete Methämoglobinlösung in dem durch Glas filtrierten Sonnenlichte erleidet. Später erwies es sich durch übereinstimmende Untersuchungen von v. Zeynek[5]), Haldane[6]), Ziemke und Müller[7]) und Leers[8]), daß diese Wirkung von Spuren von Ferricyankalium herrührt, die im Lichte unter Bildung von Blausäure dekomponiert werden.[9])

[1]) J. Haldane, A contribution to the chemistry of haemoglobin and its immediate derivations. Journ. of Physiol. 22, 1897—98.

[2]) R. v. Zeynek, Neue Beobachtungen und Versuche über das Methämoglobin und seine Bildungsweise. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1899.

[3]) Das molekulare CO verdrängt den molekularen O_2 aus dem Oxyhämoglobin, während O_2 dagegen CO aus dem Kohlenoxydhämochromogen verdrängt (Bertin-Sans, l. c.). Der Sauerstoff im Hämatin ist nämlich atomisch gebunden (Hämatin ist „Hämochromogen-Oxyd"), während der Natur der Sache zufolge CO in diesen Verbindungen stets in molekularem Zustande vorkommen muß. Deshalb wird das leicht oxydierbare Hämochromogen oxydiert ohne Rücksicht darauf, ob das Kohlenoxyd „adsorbiert" worden war.

[4]) J. Bock, Über eine durch das Licht hervorgerufene Veränderung des Methämoglobins. Skand. Arch. f. Physiol. 6, 1895.

[5]) R. v. Zeynek, Üb. krystall. Cyanhämoglobin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 1901.

[6]) J. Haldane, On Cyanmethaemoglobin. Journ. of Physiol. 25, 1899—1900.

[7]) E. Ziemke und F. Müller, Beitr. z. Spektroskopie des Blutes. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1901, Suppl.

[8]) O. Leers, Über Photomethämoglobin. Diese Zeitschr. 12, 1908.

[9]) Die Blausäurebildung durch Belichtung des Ferricyankaliums wurde, meines Wissens, zuerst 1885 von Eder nachgewiesen (Eder und Valenta, Beiträge zur Photochemie und Spektralanalyse 2, 21, Wien 1904).

und daß Bocks „Photomethämoglobin" mit dem 1891 von Kobert[1]) gefundenen Cyanhämoglobin identisch ist, mit dem es das Spektrum (Absorption etwa 580 $\mu\mu$ bis 520 $\mu\mu$) und chemische Reaktionen gemein hat.

Im Lichte der Quecksilberquarzlampe verläuft die Reaktion sehr geschwind; wie der 17. Versuch zeigt, wird die Hauptmenge der gegebenen Methämoglobinlösung fast momentan umgebildet; nach 3 Minuten ist die Umbildung eine vollständige. Wird das Licht durch gew. Glas filtriert, so verläuft die Reaktion um ca. 5mal langsamer. Der Versuch klärt ferner auf, wie das Licht auf eine Oxyhämoglobinlösung wirkt, die nur zum Teil durch Ferricyankalium in Methämoglobin umgebildet worden ist.

17. Versuch vom 20. X. 08.

5%ige Auflösung gereinigter Blutkörperchen in Wasser. Zu a) und b) Zusatz von 10%igem Ferricyankalium tropfenweise bis zum konstanten Methämoglobinspektrum, zu c) Zusatz von 1%igem Ferricyankalium tropfenweise, bis Linie I eben sichtbar wird. Kleine Quarzcuvetten.

a) Methämoglobin + K_3Cy_6Fe Bel. *durch Quarz*	b) Methämoglobin + K_3Cy_6Fe Bel. *durch Glas*	c) Methb. + Oxyhb. + K_3Cy_6Fe Bel. *durch Quarz*
1′ Fast reines Cyanhämoglobin 2′ Noch Spuren von Methämoglobin 3′ Reines Cyanhb. Keine Ausscheidung	1′ Reines Methb. 3′ Spuren von Cyanhb. 7′ Gemischt.Spektrum 10′ Noch Spuren von Methb. 13′ do. 16′ Reines Cyanhb. Keine Ausscheidung	1′ Methb. 7′ Methb. Schwache Ausscheid. Spuren von Cyanhb. (?) 16′ Das Spektrum unveränd., verschwommen infolge Ausscheidungen. 24′ Die Flüssigkeit immer blasser. Noch immer Methb. Reichliche Ausscheidgn.

Versuch 17c zeigt, daß, wenn die Umbildung in Methämoglobin durch Ferricyankalium keine vollständige ist, die Lichtwirkung auf das restierende Oxyhämoglobin: die Methämoglobin- und die Hämatinbildung, eine mögliche Cyanhämoglobinbildung gänzlich verdecken kann. Dies trägt dazu bei, Gröbers obengenannte Beobachtung von Methämoglobinbildung durch Belichtung von Kohlenoxydhämoglobin + Ferricyankalium verständlich zu machen; denn die in Gröbers Versuche zugesetzte Menge K_3Cy_6Fe war gerade absichtlich so gering, daß die Umbildung in Methämoglobin beim Anfang des Versuches nicht beendigt war, ja erst nach Verlauf einer meßbaren Zeit erkennbar wurde.

[1]) Malys Jahresberichte 1891.

Leers teilt mit (l. c.), daß die Umbildung in Cyanhämoglobin ihm nicht durch Belichtung (Sonnenlicht) chemisch reinen Methämoglobins von Grübler gelang. Ich wies mit meiner Versuchsanordnung eine sehr kräftige Cyanhämoglobinbildung in einem Präparate „chemisch reinen" Methämoglobins von Grübler nach und muß daraus schließen, daß das Präparat durch Ferricyankalium dargestellt worden war, eine Methode, die demnach als verwerflich zu bezeichnen ist.

Soweit ich zu sehen vermag, gibt es keine andere Methode zur Reindarstellung von Methämoglobin, die so gute Garantie gegen Verunreinigung darböte, als die Ultraviolettbestrahlung einer reinen Oxyhämoglobinlösung bei reichlichem Zutritt der Luft.

Ist die Lichtbeständigkeit des reduzierten Hämoglobins eine absolute? Während dem Vorhergehenden zufolge Oxyhämoglobin, Methämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin und Hämatin gegen Licht der angewandten Qualität und Quantität unbeständig sind, haben wir dagegen im Hämochromogen, Cyanhämoglobin und reduzierten Hämoglobin wenigstens relativ lichtbeständige Verbindungen. Wie man früher diese Verhältnisse zum größten Teil nicht kannte, weil die Qualität des angewandten Lichtes deren Erkenntnis nicht gestattete, so ist es ja sehr möglich, daß ein anderes oder kräftigeres Licht als das von mir benutzte auch der Beständigkeit der genannten „lichtbeständigen" Hämoglobinderivate ein Ende machen wird.

Was das reduzierte Hämoglobin betrifft, so zeigt der 9. Versuch ganz unzweifelhaft, daß dieser Stoff unter den angewandten Versuchsbedingungen, u. a. in der gegebenen Konzentration (ca. 14 % Hämoglobin unter Voraussetzung völliger Hämolyse) sich als vollkommen lichtbeständig erwies. Ob dasselbe mit den schwächeren Konzentrationen (2 bis 5 % Auflösung von Blutkörperchen, 0,8 bis 2 % Hämoglobin entsprechend), die in den meisten der referierten Versuche angewandt wurden, der Fall ist, suchte ich durch eine einzelne Untersuchung an einer Hämoglobinlösung von ca. 0,8 % zu entscheiden.

18. Versuch vom 27. X. 08.

Zwei ausgepumpte Quarzcuvetten mit reduziertem Hämoglobin wurden durch Quarz belichtet, die eine 20′, die andere 90′ lang; nach der Belichtung wurden die Lösungen mit atmosphärischer Luft gesättigt, ebenso wie eine Probe des entgasten, unbelichteten Restes in der Pumpe; darauf verglich ich den Oxyhämoglobingehalt in 1 ccm der belichteten Proben mit dem in 1 ccm der unbelichteten Probe nach der colorimetrischen Methode, die zu den Hämolysebestimmungen im folgenden Abschnitte benutzt wurde. Die 20′ lang belichtete Auflösung zeigte nun einen Oxyhämoglobingehalt von 94 % von dem der Kontrollprobe; die 90′ lang belichtete: 83 %.

Dieser Versuch deutet an, daß die Lichtbeständigkeit des reduzierten Hämoglobins, wenngleich im Vergleich mit der des Oxyhämoglobins ungeheuer groß, so doch begrenzt ist. Auf welcher Reaktion dieser geringe Grad der Unbeständigkeit gegen Licht beruht, weiß ich nicht. Es ist unwahrscheinlich, daß er mit den unendlich kleinen Sauerstoffmengen in Beziehung stehen sollte, die man sich als an die inneren Flächen der Quarzcuvette adsorbiert denken muß, und die sich nicht durch einfaches Auspumpen entfernen lassen; denn das Licht würde möglicherweise gebildetes Methämoglobin in reduziertes Hämoglobin umgewandelt haben. Dagegen bemerkte ich bei dieser wie bei mehreren anderen Gelegenheiten, daß auch das im Vakuum belichtete reduzierte Hämoglobin, sobald die Cuvette geöffnet wurde, denselben oder einen ähnlichen, an Phosphor erinnernden Geruch entsandte wie belichtete Oxyhämoglobinlösungen.

Es ist möglich, daß die geringe Lichtdestruktion schwacher Lösungen reduzierten Hämoglobins mit dieser Erscheinung in Beziehung steht.

II. Blutkörperchen.

Bekanntlich bewirken eine Menge verschiedenartiger Eingriffe das Austreten des Blutfarbstoffes aus den roten Blutkörperchen und somit dessen Auflösung in das umgebende Medium: die Hämolyse. Der Mechanismus dieses Vorganges ist wahrscheinlich der Natur des Eingriffes gemäß höchst verschiedenartig, indem es sich bald um einfache Zersprengung des Blutkörperchens, — wie bei dessen Eintragung in ein hypotonisches Medium — bald um eine Zersetzung der Membran oder des Stromas desselben handelt — wie bei der Behandlung mit Äther und anderen lipoidlösenden Stoffen; endlich ist es denkbar, daß der Vorgang dadurch unterstützt würde, daß eine Reaktion zwischen dem hämolysierenden Agens und dem Oxyhämoglobin stattfände.

Daß Strahlen mit kurzer Wellenlänge auf rote Blutkörperchen — ohne Zusatz eines „sensibilisierenden" Stoffes (s. u.) — auflösend wirkt, wurde zuerst von S. Schmidt-Nielsen[1]) ohne nähere

[1]) S. Schmidt-Nielsen, Einige Erfahrungen über das Licht als Reagens. Mitteil. aus Finsens Med. Lichtinstitut 10, 1906.

Erörterung und von G. Busck[1]) angegeben, welcher letztere findet, daß die Wirkung auf den in Glas zurückgehaltenen ultravioletten Strahlen beruht. Diese beiden Beobachtungen wurden 1906 veröffentlicht. Später teilte S. Schmidt-Nielsen[2]) über seine oben erwähnte Beobachtung mit, daß das angewandte Licht — konzentriertes Kohlenbogenlicht *ad. mod.* Finsen — nicht so sehr hämolysierend im eigentlichen Sinne als vielmehr die Resistenz gegen hypotonische Salzlösungen vermindernd wirke. Die äußerst geringe Wirkung im Vergleich mit der von Busck erzielten (totale Hämolyse nach 15 Min. dauernder Bestrahlung) muß daher, da beide Forscher dieselbe Lichtquelle benutzten, von der weit größeren Konzentration und Schichtdicke in Schmidt-Nielsens Versuchen herrühren.

Dreyer und Hanssen[3]) benutzten Blutkörperchenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung in Thoma-Zeißschen Zählkammern mit Quarzdeckgläsern; die Lichtquelle war eine Bang-Lampe mit abgekühlten silbernen Elektroden, also sehr ultraviolettreich. Der Zweck der Untersuchung bestand darin, das Zeitmaß für den Verlauf der Hämolyse nach kurzer Belichtung zu bestimmen. Es erwies sich, daß nach einer solchen Belichtung erst eine gewisse Latenzzeit verstrich, bevor das Hämoglobin auszutreten begann; unter dem Mikroskope vermochte man den Gang der Hämolyse mittels Zählens der unversehrten Blutkörperchen zu verfolgen. Es erwies sich nun, daß die größte Wirkung: die Auflösung eines gewissen prozentualen Teiles der Blutkörperchen während der ersten Zeiteinheit nach dem Eintreten der Hämolyse erfolgte, während der folgenden Zeiteinheit aber die Auflösung desselben prozentualen Teiles der noch unversehrten Blutkörperchen usw., kurz, daß die Hämolyse sich vollzog nach der Formel

$$\frac{dx}{dt} = k\,(a \div x).$$

Es erübrigte nur noch die Untersuchung mehrerer prinzipiell wichtiger Fragen:

1. Steht die Oxyhämoglobindestruktion durch Licht, die wir oben fanden, in irgendwelcher Beziehung zu der gleichzeitig bewirkten Hämolyse?

2. Erfordert die Lichthämolyse das Vorhandensein von Sauerstoff?

---

[1]) G. Busck, Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweißverbindungen. Diese Zeitschr. 1, 1906.

[2]) S. Schmidt-Nielsen, Vortrag in der biologischen Gesellschaft in Christiania, ref. in Nyt Magazin for Naturvidenskab. 1909.

[3]) G. Dreyer und O. Hanssen, Sur la loi de la vitesse d'hémolyse des hématies sous l'action de la lumière, de la chaleur et de quelques corps hémolytiques. Compt. rend. 145, 1907.

3. In welcher Weise ist der Grad der Hämolyse von der Dauer der Belichtung abhängig?

4. In welcher Weise ist der Grad der Hämolyse von der Art des Lichtes abhängig?

Zur Anleitung bei der Beantwortung der ersten Frage untersuchte ich in drei Versuchen die Bedeutung des Hämolysegrades für die Oxyhämoglobindestruktion durch Licht, so zwar, daß ich während der ersten Hälfte jedes Versuches 15 ccm Blut + 15 ccm 0,85 % NaCl-Lösung eine gewisse Zeit lang, darauf während der zweiten Hälfte ebenso lange 15 ccm Blut + 15 ccm destilliertes Wasser belichtete. Im ersteren Falle wurden die normalen Blutkörperchen belichtet, die sich im Laufe des Versuches wegen der Belichtung bis zu einem gewissen geringen Grade auflösen; im letzteren Falle kamen völlig aufgelöste Blutkörperchen zur Belichtung.

18. Versuche vom 21. IX., 23. IX., 24. IX. 08.

Die Flüssigkeiten waren während der Belichtung — durch Quarz — in der großen Quarzkammer mit atm. Luft eingeschlossen. Temp. ca. 15°. Anal. ca. 22 ccm Flüssigkeit in jeder Bestimmung.

Dauer der Belichtung		30′	15′	15′	Durchschnitt
Blut + H_2O	Vol.-% O_2	3,60	7,67	8,38	6,55
Blut + 0,85 % NaCl .	do.	3,88	7,76	7,90	6,51

Wie Versuch 18 zeigt, ist es bei der gegebenen Versuchsanordnung einerlei, ob das Oxyhämoglobin in aufgelöstem Zustande (ca. 7 % Oxyhb.) oder in die Blutkörperchen eingeschlossen (ca. 35 % Oxyhb.) zur Belichtung kommt. Die Lichtdestruktion des Oxyhämoglobins erfolgt in beiden Fällen in demselben Umfange.

Ob umgekehrt der Grad der Hämolyse von der Methämoglobinbildung durch Licht abhängt, ist eine Frage, deren exakte Beantwortung ich nicht zu geben vermag, da wenigstens die von mir angewandte Bestimmung des Grades der Hämolyse zu einer solchen Untersuchung nicht geeignet ist (s. u.).

Dagegen läßt es sich leicht zeigen, daß die Hämolyse unter Bedingungen, die die Oxyhämoglobindestruktion ausschließen, im Vakuum nämlich, geschehen kann. Eine Aufschwemmung gereinigter Blutkörperchen in 0,85 %iger NaCl-Lösung kann schnell und leicht vollständig evakuiert werden (20 ccm einer 5 %igen Aufschwemmung in weniger als 1/2 Stunde), so daß gar keine oder auch nur eine minimale Hämolyse eintritt; die Bedingung ist nur die, daß die Blutkörperchen

während des Auspumpens nicht erwärmt werden, und daß eventuell durch Leitungswasser abgekühlt wird. Durch Schütteln wird nun ein Teil der Blutkörperchenaufschwemmung in eine ausgepumpte Quarzcuvette gebracht, und man schließt den Hahn der Cuvette. Belichtet man ein solches Präparat (19. Versuch), so erweist es sich, daß nach angemessen langer Belichtung vollständige Hämolyse eingetreten ist in einem Medium, das nachweislich keinen Sauerstoff enthält, da zu keinem Zeitpunkte der Belichtung eine Methämoglobinbildung wahrgenommen werden konnte.

19. Versuch vom 29. X. 08.

5 %ige Aufschwemmung 3 mal gereinigter Blutkörperchen in 0,85 %igen NaCl. Davon 20 ccm entgast. Die Cuvetten a, b und c bis zur Marke gefüllt. a im Vakuum durch Quarz belichtet, b im Dunkel rotiert, c im Vakuum durch Glas belichtet.

a) Belichtet durch Quarz 60′. Vakuum	b) Unbelichtet 60′. Vakuum	c) Belichtet durch Glas 60′. Vakuum
Totale Hämolyse. *Reines red. Hb.* Eine Spur atm. Luft eingelassen. Bel. 3′: Methb. + red. Hb. Trübung. Bel. 9′: Methb. + red. Hb. Bel. 24′: Reines red. Hb. Reichliche atm. Luft eingelassen. Bel. 4′: Methb., starke Ausscheidung.	*Hämolyse O.* *Reines red. Hb.*	*Geringe Hämolyse.* *Reines red. Hb.*

Im Versuch 19a wurden, um zu ermitteln, welche Bedeutung das Vorhandensein einer geringen Sauerstoffmenge hat, ca. 0,025 ccm Sauerstoff (berechnet) nach dem Abschluß des Hauptversuches zugesetzt: die Methämoglobin- und Hämatinbildung beginnt sofort bei Belichtung. Wie zu erwarten, wird bei fortgesetzter Belichtung ein Teil des gebildeten Methämoglobins reduziert: nach erneuertem Zusatz von Sauerstoff im Überschuß wird der gesamte Blutfarbstoff in Methämoglobin umgebildet und dieses noch ferner zersetzt.

Der 19. Versuch — der Hauptversuch — wurde mit demselben Ergebnisse im ganzen 12 mal wiederholt, indem die spektroskopischen Verhältnisse zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Beginn der Belichtung beobachtet wurden. Niemals zeigte sich Methämoglobin, ge-

schweige denn Ausscheidung von Hämatin, so daß man hieraus schließen kann, daß die Hämolyse im vollständigen Vakuum stattgefunden hat. Ein fernerer Beweis für die Sauerstofflosigkeit des Mediums liegt in den unten mitgeteilten Beobachtungen über die Bedingungen der optischen Sensibilisation.

Was die Beziehung des Grades der Hämolyse zur Belichtungsdauer betrifft, muß man aus Dreyer und Hanssens (l. c.) Nachweis, daß die Belichtung nach einer gewissen Induktionszeit eine Hämolyse herbeiführt, die schnell einsetzt und allmählich abklingt, den Schluß ziehen, daß die Beziehung sich wohl schwerlich als so einfach erweisen wird wie die Abhängigkeit der Oxyhämoglobindestruktion von der Dauer der Belichtung. Letztere Lichtreaktion scheint nämlich (vgl. den 7. Versuch) im Gegensatz zur Hämolyse beim Aufhören der Belichtung abgeschlossen zu sein. Nimmt man an, was nahezuliegen scheint, daß die Lichthämolye auf einer Fettsäureabspaltung oder dgl. aus dem Lecithin des Blutkörperchens beruht,[1]) welche die Zersetzung sowohl belichteter als eventuell auch unbelichteter Blutkörperchen nach Einwirkung von gewisser Dauer auf dieselben herbeiführt, so ist man von vornherein zu dem Schlusse berechtigt, daß die Lichthämolyse in ganz anderer und weit mehr verwickelter Beziehung zur Dauer der Belichtung steht, als dies mit der Oxyhämoglobindestruktion der Fall war, die sich allem Anschein nach auf die belichteten und noch nicht umgebildeten Moleküle beschränkt.

Bei den Versuchen, um die Abhängigkeit des Grades der Hämolyse von der Dauer der Belichtung zu bestimmen, bediente ich mich des folgenden Verfahrens. Ein passendes Volumen (3mal mit 0,85%igem NaCl zentrifugierter) gereinigter, in 0,85%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmter Blutkörperchen wird im Rezipienten der Quecksilberluftpumpe ohne Erwärmung und während behutsamen Schüttelns entgast. Nach und nach werden von hier durch Schütteln konstante Mengen Blutkörperchenaufschwemmung in ausgepumpte Quarzcuvetten gebracht und variierte Zeiten hindurch der Belichtung ausgesetzt. Unmittelbar nach der Belichtung entleert man die Blutkörperchenaufschwemmung in Zentrifugengläser, schüttelt sie mit Luft und zentrifugiert sie eine konstante Zeit lang — 15 Min. — sofort in einem kalten Zimmer. In einer angemessenen Menge — 1 ccm — der blutfarbigen NaCl-Lösung über den zurückgebliebenen Blutkörperchen

[1]) Unter Anwendung von Uranylverbindungen als Katalysatoren und bei Vorhandensein atmosphärischer Luft fand C. Neuberg (Chemische Umwandl. durch Strahlenarten. Diese Zeitschr. 13, 1908), daß das Lecithin im Sonnenlichte außer anderen Veränderungen auch eine Zunahme der Acidität darbot. Sicheres mit Bezug auf die Chemie der Lichthämolyse läßt sich aus dieser Beobachtung jedoch nicht folgern, eben weil in N.s Versuchen sowohl Sauerstoff als auch ein Katalysator vorhanden war. Inwiefern bei der Belichtung von Blutkörperchen im Vakuum neben der Hämolyse auch eine Zunahme der Acidität stattfindet, ist noch unentschieden; jedenfalls ist eine solche nicht bedeutend.

bestimmt man die Oxyhämoglobinmenge — nach einer in v. Tappeiners Laboratorium angewandten Methode[1]) — mittels der Menge 0,85%iger NaCl-Lösung, die man zusetzen muß, um in einer gegebenen Schichtdicke bei konstanter Belichtung und konstanter Spaltweite des Spektroskops die Oxyhämoglobinlinie α (580 $\mu\mu$) zum Verschwinden zu bringen. Ist die entsprechende Größe für die völlig hämolysierten Blutkörperchen bekannt, so berechnet man durch einfache Division den prozentualen Grad der Hämolyse. Die Methode setzt allerdings voraus, daß die Flüssigkeit, deren Oxyhämoglobingehalt ein Ausdruck der stattgehabten Hämolyse sein soll, wirklich ausschließlich Oxyhämoglobin und nicht zugleich z. B. Methämoglobin enthält.

Wenn ein wesentlicher Teil der „Blutfarbe" in der über den Blutkörperchen stehenden NaCl-Lösung von Methämoglobin herrührt, so wird die zum Verschwindenbringen der Linie 580 $\mu\mu$ erforderliche Menge NaCl-Lösung viel geringer werden, als wenn es sich um eine reine Oxyhämoglobinlösung handelt. Die Zahl für die stattgefundene Hämolyse wird dann zu niedrig werden. Dieser Einwurf trifft eben die genannten Untersuchungen aus v. Tappeiners Laboratorium, denn in diesen ist außer der Hämolyse unzweifelhaft eine ziemlich kräftige Methämoglobinbildung vorgegangen (s. den nächsten Abschnitt). Derselbe Einwurf gilt übrigens auch von der auf einfacher Colorimetrie beruhenden Bestimmung der Hämolyse, die Arrhenius vorschlug, insofern die untersuchten Hämolytica zugleich Methämoglobin- oder sogar Hämatinbildner sind,[2]) was sehr oft der Fall ist. Die Farbe der Lösung läßt sich in solchen Fällen nicht als Maß der geschehenen Hämolyse gebrauchen; ist das Oxyhämoglobin auch nur zum Teil in Methämoglobin umgebildet, so wird eine wesentlich geringere Hämolyse als die wirkliche vorgetäuscht. Durch Reduktion, z. B. mit Schwefelammonium und fortwährendes Schütteln mit Luft kann der Fehler — der 100% des Wertes betragen kann — teilweise eliminiert werden, insofern nämlich die Umbildung nicht weiter als bis zu Methämoglobin gegangen ist.

Da ich in meinen Versuchen Blutkörperchen mit reduziertem Hämoglobin benutzte, das praktisch genommen lichtbeständig ist, vermied ich eine Umbildung des Farbstoffes, dessen Menge das Maß des Grades der Hämolyse abgibt.

Die Genauigkeit, womit die benutzte Methode den Grad der Hämolyse angibt, geht aus folgender Übereinstimmung der gefundenen mit den wirklichen Oxyhämoglobinkonzentrationen in einer Reihe Verdünnungen hervor; die Konzentration der Stammflüssigkeit wird als 100 bezeichnet.

---

[1]) O. Harzbecker und A. Jodlbauer, Über den zeitlichen Ablauf der Hämolyse bei Belichtung sensibilisierter roter Blutkörperchen. Diese Zeitschr. 12, 1908.

[2]) Svante Arrhenius, Versuche über Hämolyse. Medd. fr. K. Vetenskapsakademiens Nobelinstitut 1, 1908.

Oxyhämoglobin - Konzentration gefunden	wirklich	Oxyhämoglobin - Konzentration gefunden	wirklich
—	100	8,4	8,2
33	33,3	3,4	4,1
17,2	16,5	0	2,0

Es erwies sich als von Wichtigkeit, daß die Verdünnungsflüssigkeit (die eine 0,85 % ige *NaCl*-Lösung sein muß, weil die Methämoglobinbildung durch destilliertes Wasser begünstigt wird) geschwind (aus einer Bürette) zugesetzt wurde, und daß die Belichtung während der Spektroskopie aus Rücksicht auf das methämoglobinbildende Vermögen des Lichtes, das bei diesen schwachen Konzentrationen meßbare Fehler verursachen kann, eine schonende war. Nach einiger Übung beendigte ich eine Bestimmung des Hämolysegrades in ca. 2 Min. — In den folgenden Versuchen geben die Zahlen die prozentuale Hämolyse an; unter Hämolyse 0 ist eine Hämolyse zu verstehen, die weniger als 2 % beträgt.

20. Versuch vom 13. XI. 08.

25 ccm 2 % ige Blutkörperchenaufschwemmung in 0,85 % iger *NaCl*-Lösung, im Dunkel bei Zimmertemp. (ca 15° C) entgast. Davon konstante Mengen zur Belichtung durch Quarz in Quarzcuvetten.

	Grad der Hämolyse		Grad der Hämolyse
a) Bel. 30′	100	d) Bel. 20′	95
b) „ 7,5′	34	e) „ 0′	2,5
c) „ 10′	57		

21. Versuch vom 26. XI. 08.

25 ccm 4 % ige Blutkörperchenaufschwemmung in 0,85 % iger *NaCl*-Lösung, im Dunkel bei Temp. ca. 7° entgast. Sonst wie im 20. Versuch.

	Grad der Hämolyse		Grad der Hämolyse
a) Bel. 10′	6	d) Bel. 40′	27
b) „ 20′	13	e) „ 50′	42
c) „ 30′	18	f) „ 0′	0

Aus dem 20. und 21. Versuche geht hervor, daß **der Grad der Hämolyse bei Belichtung im Vakuum unter den gegebenen Bedingungen stärker anwächst als die Belichtungsdauer.** In einer graphischen Darstellung des 21. Versuches, wo die Strahlzeit die Abszisse, der Grad der Hämolyse die Ordinate wären, würden die Endpunkte der Ordinaten eine zur

Abszissenachse konvexe Kurve bezeichnen. Die Destruktion des Oxyhämoglobins verläuft dagegen (vgl. die Formel S. 443) in einer zur Abszissenachse konkaven Kurve.

Hauptsächlich die Strahlen mit Wellenlängen unter 310 $\mu\mu$ bewirken die Hämolyse. Aus dem 19. Versuch geht hervor, daß das Licht, wenn es durch gew. Glas filtriert worden ist, dennoch eine geringe, nicht ausgemessene hämolytische Wirkung übt. Im 22. Versuch wurde der Grad der Hämolyse bestimmt, der in einer 2%igen Blutkörperchenaufschwemmung nach Belichtung durch Glas im Vakuum angetroffen wird. Derselbe ist verschwindend im Vergleich mit dem durch unfiltriertes Glas bewirkten (vgl. den 20. Versuch, wo die Verhältnisse sonst dieselben waren), jedoch noch immer meßbar.

22. Versuch vom 14. XI. 08.

2%ige Blutkörperchenaufschwemmung in 0,85%iger *NaCl*-Lösung, Entgasung. Gleiche Mengen in zwei ausgepumpte Quarzcuvetten übergeführt. Belichtung durch Glas im Vakuum.

	Grad der Hämolyse
a) Bel. 15′	3
b) „ 60′	6,5
c) „ 0′	0

Im folgenden Abschnitte finden sich eine Reihe Wiederholungen des 22. Versuches, die sämtlich eine ähnliche **schwache, jedoch deutliche, hämolysierende Wirkung des durch Glas filtrierten Lichtes der Quarzlampe auf Blutkörperchen im Vakuum zeigen.**

III. Die Sensibilisation.

Seitdem H. W. Vogel 1874 die Erscheinung entdeckte, die er die „optische Sensibilisation" nannte, und die darin besteht, daß Silberhaloide, welche für sich allein, praktisch genommen, nur für blaue, violette und ultraviolette Strahlen lichtempfindlich[1]) sind, durch Beimischung verschiedener Farbstoffe auch für andere Lichtqualitäten — rote, gelbe, grüne Strahlen empfindlich werden, ist die Sensibilisation behufs photographischer

[1]) Unter „lichtempfindlich" ist in diesem Zusammenhang in erster Linie zu verstehen: einer partiellen Reduktion durch Licht zugänglich.

Zwecke eingehend von Vogel, Eder, deren Schülern und einer langen Reihe späterer Untersucher[1]) studiert worden. Neuere Forscher auf dem Gebiete der „photobiologischen Sensibilisation"[2]) behaupten oft, das Verständnis der optischen Sensibilisation sei seit der Entdeckung der Erscheinung nicht zu wesentlich größerer Klarheit gelangt; Hanssen (l. c. S. 125) nennt sogar die photographische (und die photobiologische) Sensibilisation: deux processus encore inconnus. Wie unten näher entwickelt, finde ich diese Auffassung nicht berechtigt.

Die Bedeutung der Pflanzenfarbstoffe für die Kohlensäureassimilation wurde bereits 1883 (Engelmann) mit der Wirkung der optischen Sensibilisatoren auf Silberhaloide verglichen. Hiervon abgesehen waren es jedoch Arbeiten aus v. Tappeiners Laboratorium in München, die seit 1899 und bis heute fortgesetzt in einer langen Reihe von Untersuchungen zuerst die Aufmerksamkeit der Biologen auf die Möglichkeit lenkten, photobiologische Prozesse durch Farbstoffe zu beschleunigen. Während v. Tappeiner sich anfangs der eigentlichen Natur der neuentdeckten Erscheinung gegenüber abwartend stellte, und dieselbe „photodynamisch" taufte, hegte Dreyer (l. c.) durchaus keinen Zweifel, daß sie der photographischen Sensibilisation als ganz parallel zu betrachten sei. Nachdem v. Tappeiner und seine Mitarbeiter eine Reihe von Jahren hindurch diese Ansicht als unerwiesen und unwahrscheinlich bekämpft hatten, scheint in der jüngsten Zeit,[3]) nachdem das Münchener Laboratorium das Thema ferner behandelt und die gemeinschaftliche Symptomatologie der beiden Prozesse festgestellt hat, völlige Einigkeit über deren Identität eingetreten zu sein, meiner Meinung nach (s. u.) mit Unrecht.

Es wird notwendig sein, die Hauptpunkte unseres jetzigen Wissens über diese Prozesse anzuführen.

---

[1]) Siehe hierüber namentlich die beiden Sammelwerke: J. M. Eder, Die chemischen Wirkungen des Lichtes usw., 1891, und J. M. Eder und E. Valenta, Beiträge zur Photochemie und Spektralanalyse, Wien 1904, und die darin erwähnten Spezialabhandlungen.

[2]) Über die photobiologische Sensibilisation siehe besonders: G. Dreyer, Die Sensibilisation von Mikroorganismen und tierischen Geweben. Mitt. aus Finsens Med. Lichtinst. 7, 1904. — G. Busck, Die photobiol. Sensibilisatoren und ihre Eiweißverbindungen. Diese Zeitschr. 1, 1906. — H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer, Die sensibil. Wirkung fluorescierender Substanzen, 1907. — E. Hertel, Abhandlungen in der Zeitschr. f. allg. Physiol. 1904, 1905, 1906. — O. Hanssen, Recherches expérimentales sur la sensibilisation etc. Königl. Dän. Akad. d. Wissenschaften. 1908.

[3]) A. Jodlbauer, Die sensibilisierende Wirkung fluorescierender Stoffe (Photodynamische Erscheinung). Jahrb. u. Leist. u. Fortschr. a. d. Gebiete der physikal. Med. 1908.

Was nun zuerst die photographische Sensibilisation betrifft, können wir die Verhältnisse da betrachten, wo sie am besten aufgeklärt sind, nämlich an einer durch Eosin sensibilisierten Bromsilbergelatineemulsion.

Die Bromsilbergelatine an und für sich hat ihr Empfindlichkeitsmaximum und zugleich ihr Absorptionsmaximum im Blau; bei sehr langer Exposition können aber selbst gelbe, ja orange Strahlen schwach auf sie einwirken.

Zusatz von Eosin bewirkt, daß das Empfindlichkeitsmaximum sich nach dem Gelbgrün verschiebt, wo das Eosin seine maximale Absorption hat, ja sogar ca. 30 $\mu\mu$ an diesem Orte vorbei nach Rot hin. Nun zeigt es sich indes, daß *Eosin-Bromsilbergelatine* ein Absorptionsspektrum hat (Eder und Valenta, l. c. 3, 38), welches der gemessenen Lichtempfindlichkeit genau entspricht und sich also, mit dem Absorptionsspektrum des Eosins verglichen, ca. 30 $\mu\mu$ gegen Rot verschoben hat.

Nicht einmal mittels fortgesetzten Auswaschens gelingt es, die Bromsilbergelatine völlig vom Eosin zu befreien. (Eder und Valenta, 3, 20).

Aus diesen und mehreren anderen Beobachtungen schließt Eder, daß im Dunkel eine — vielleicht auf Adsorption beruhende — Reaktion zwischen dem Sensibilisator und dem Bromsilber (+ Gelatine) vorgehe, die in einer neuen „Verbindung“ mit neuem Absorptions- und Empfindlichkeitsmaximum resultiere. Hübl hat nachgewiesen (Eder und Valenta, 3, 89), daß eine „Färbung“ des Bromsilbers die Voraussetzung der Sensibilisation ist; wird die Bromsilbergelatine mit überschüssigem Silbernitrat dargestellt, so läßt sie sich durch Eosin sowohl färben als sensibilisieren, wird sie mit überschüssigem Bromid dargestellt, so geschieht keins von beiden.

Eder findet keine Übereinstimmung zwischen einerseits der chemischen Konstitution, dem Fluorescenzvermögen und der Lichtempfindlichkeit verschiedener Sensibilisatoren und andrerseits deren Sensibilisationsvermögen (l. c. 3, 23 bis 24). „Es steigert sich nach meiner Ansicht vielmehr die Wirkung des Bromsilbers und des Farbstoffes gegenseitig, und zwar unabhängig von der Lichtempfindlichkeit des Farbstoffes für sich.“

Endlich faßt Eder seine Ansicht von der Natur der Sensibilisation in folgenden Satz zusammen: „Die Neigung des Farbstoffes, sich im Lichte zu oxydieren (bromieren), wird durch die Eigenschaft des Bromsilbers, im Lichte das desoxydierende Brom abzugeben, unterstützt.“

Besteht also die Wirkung des photographischen Sensibilisators darin, daß er in seiner Eigenschaft als farbiger und leicht oxydierbarer Stoff die teilweise Reduktion der Silberhaloide durch Strahlen von großer Wellenlänge unterstützt, so muß man u. a. schließen dürfen, daß der Prozeß im Vakuum mit derselben (oder vielleicht noch größerer) Geschwindigkeit verläuft wie in sauerstoffhaltiger Atmosphäre. Soweit mir bekannt, liegt hierfür kein Beweis vor. Dagegen hat Eder gesehen (2, 26), daß ein Quecksilberhaloid, Hg_2J_2, im Lichte und ohne Sauerstoff zu Hg und Hg_4J_6 reduziert wurde.

Endlich ist zu bemerken, daß sensibilisierte photographische Platten nur wenig haltbar sind, selbst wenn sie im vollständigen Dunkel aufbewahrt werden.

Dies ist der Hauptsache nach, was über die Natur der photographischen Sensibilisation als bekannt vorliegt.

Will man eine neue biologische Erscheinung mit einer bekannten chemo-physikalischen parallelisieren oder identifizieren, so wie man es mit der „photobiologischen" und der photographischen oder optischen Sensibilisation getan hat, so muß man verlangen, daß die beiden Prozesse in allen wesentlichen Punkten miteinander verglichen werden. Der Umstand allein, daß — um ein Beispiel zu nennen — die Galle im Lichte stärker hämolysiert als im Dunkel,[1]) kann nicht zu der Behauptung berechtigen, daß die Galle ein optischer Sensibilisator sei. Mehrere andere Möglichkeiten stehen offen; eine derselben ist die, daß es sich um eine einfache Addition der hämolysierenden Eigenschaft der Galle zu der des Lichtes handeln könnte; eine andere, daß die für sich belichtete Galle gesteigertes hämolysierendes Vermögen erhielte; eine dritte, daß sie beschleunigend auf die Lichthämolyse wirkte schon allein wegen ihrer chemischen Konstitution („chemische Sensibilisation") ohne Rücksicht auf die Qualität des von ihr absorbierten Lichtes, daß sie also in genau derselben Weise wirken würde, selbst wenn ihr alle Farbe entzogen wäre.

v. Tappeiner, Jodlbauer und ihre Schüler haben durch ihre Arbeit ein großes Material herbeigeschafft, das sich jedoch zur Klarlegung der Ähnlichkeitspunkte der optischen mit der photobiologischen Sensibilisation nur teilweise benutzen läßt.

Die Bemühung, ein gewisses — umgekehrtes — Verhältnis zwischen dem fluoreszcierenden und dem sensibilisierenden Vermögen eines Farbstoffes nachzuweisen, ein Verhältnis, das die biologische im Gegensatze zur photographischen Sensibilisation kennzeichnen sollte, ist mithin als erfolglos zu betrachten. Schon der leicht nachweisbare Umstand, daß z. B. Eosin ebensowohl im Vakuum als in der Luft fluoresciert, mit Bezug auf eine Reihe photobiologischer Prozesse aber nur in Luft (Sauerstoff) sensibilisiert, widerspricht einer ursächlichen Beziehung zwischen dem Fluorescenzvermögen und der Sensibilisation.

Die Lichtbeständigkeit der isolierten Farbstoffe hat sich ebensowenig für deren Anwendbarkeit als Sensibilisatoren maßgebend er-

[1]) W. Hausmann, Über die sensibilisierende Wirkung tierischer Farbstoffe und ihre physiologische Bedeutung. Diese Zeitschr. 14, 1908.

wiesen; hinsichtlich derartiger Untersuchungen kann Eder nur dasselbe negative Resultat darbieten wie v. Tappeiner, so daß wenigstens hierin keine Andeutung einer Wesensverschiedenheit der photographischen von der photobiologischen Sensibilisation liegt.

Ebenfalls scheint der Umstand, daß dieser oder jener Farbstoff als photographischer Sensibilisator wirksam, als photobiologischer aber unwirksam ist — oder umgekehrt — keine Brauchbarkeit als Argument für oder wider die prinzipielle Identität der Prozesse zu besitzen. Handelt es sich in einem Prozesse um Haloidabspaltung, im anderen um eine Sauerstoffabspaltung durch Licht, so kann derselbe Farbstoff die beiden — möglicherweise im Prinzipe miteinander übereinstimmenden — Prozesse seiner eigenen chemischen Konstitution gemäß sehr wohl in höchst verschiedenem Maße unterstützen.

Es gibt eine bestimmte Schwierigkeit, die sich demjenigen, der zu beweisen sucht, daß die Beschleunigung eines photobiologischen Prozesses durch einen Farbstoff auf einer ähnlichen Reaktion wie die photographische Sensibilisation beruhe, sehr schnell darbietet. Diese Schwierigkeit besteht darin, daß man annehmen muß, daß die verwickelten organischen Moleküle, Formelemente oder Lebewesen, mit denen man arbeitet, durch Licht auf mehr als eine Weise „geschädigt" werden können, und zwar namentlich auf anderen Wegen als durch einen Reduktionsprozeß. Die schließliche Reaktion, die im Experimente ausgemessen wird — z. B. das Absterben lebender Zellen —, kann nicht nur durch Reduktionsvorgänge (und dieselben begleitende sekundäre Oxydationen), sondern auch durch andere molekulare Zerteilungen, durch Änderungen des molekularen Zustandes usw. herbeigeführt worden sein, durch Vorgänge, auf welche das Vorhandensein lichtabsorbierender, oxydierbarer Verbindungen möglicherweise durchaus keine Einwirkung übt. Es kann mithin das Ergebnis der Untersuchung werden, daß eine photobiologische „Reaktion" — z. B. durch das Absterben einer Zelle bezeichnet — sich z. B. in zwei photochemische Reaktionen spalten läßt, deren eine der optischen Sensibilisation zugänglich ist, die andere aber nicht.

Zu demselben Schlusse wurde v. Tappeiner durch seine Untersuchungen über die Lichtwirkung auf Invertin bewogen (l. c. S. 207), wenigstens zu einem gewissen Zeitpunkte (1906): die eine photochemische Reaktion erfolge im gesamten Umfange des Spektrums, und zwar am kräftigsten in dessen ultraviolettem Teile, erfordere das Vorhandensein von Sauerstoff und sei unter

dieser Bedingung der optischen Sensibilisation zugänglich; die andere geschehe ohne Sauerstoff, in meßbarem Grade nur im ultravioletten Teile des Spektrums (?) und sei der optischen Sensibilisation unzugänglich.

Indem wir an der Möglichkeit festhalten, daß die während des Vorhandenseins eines optischen Sensibilisators stattfindende photobiologische Reaktion nur zum Teil auf einem Vorgange zu beruhen brauche, der durch den optischen Sensibilisator beschleunigt werde, wollen wir nun sehen, welche Tatsachen man mit bezug auf die photobiologische Sensibilisation gesammelt hat und inwiefern diese für oder gegen die Annahme einer prinzipiellen Ähnlichkeit zwischen diesem Prozesse und der photographischen Sensibilisation sprechen.

1. Die Wirkung des Sensibilisators ist an Strahlen geknüpft, die von demselben absorbiert werden. (Beobachtungen an Daphnien, Paramaecien, Bakterien, Chromatophoren, Enzymen von Raab, v. Tappeiner, Dreyer, Hertel, Hanssen.)

2. Die biologischen Versuchsobjekte haben — im großen und ganzen — ihr Empfindlichkeitsmaximum für Licht in dem ultravioletten Teile des Spektrums; auch langwellige Strahlen können aber, insofern sie absorbiert werden, dieselben Wirkungen auslösen (Hertel). Das Vorhandensein des Sensibilisators bewirkt, daß das Empfindlichkeitsmaximum sich bis nach dem ungefähren Platze des Absorptionsmaximums des Sensibilisators verschiebt (Hanssen). Einer einzelnen Beobachtung zufolge (Bakterien, Erythrosin: Dreyer) scheint das Empfindlichkeitsmaximum sich ein wenig über das Absorptionsmaximum des Sensibilisators hinaus, d. h. noch weiter bis gegen das rote Ende des Spektrums verschoben zu haben.

Das Absorptionsmaximum des Sensibilisators verschiebt sich nach Zusatz von Serum gegen das rote Ende des Spektrums hin (Rose bengale, Eosin u. m. a. Busck).

3. Viele photobiologische Sensibilisatoren reagieren bei hinlänglicher Konzentration auch im Dunkel gegen die biologischen Objekte (Toxine, Fermente, rote Blutkörperchen): Kudo und Jodlbauer[1]), Fr. H. v. Tappeiner[2]). In einigen Fällen ist diese Reaktion als eine Adsorptionserscheinung aufzufassen, in anderen ist sie irreversibel.

4. Daß ein Farbstoff langwellige Strahlen absorbiert, verbürgt uns nicht, daß er das Vermögen der photobiologischen Sensibilisation besitzt.

---

[1]) F. Kudo und A. Jodlbauer, Über die Dunkelwirkung fluorescierender Stoffe auf Eiweiß, Toxine und Fermente und ihre Reversibilität. Diese Zeitschr. 13, 1908.

[2]) Fr. H. v. Tappeiner, Untersuchungen über den Angriffsort der fluorescierenden Substanzen auf rote Blutkörperchen. Diese Zeitschr. 13, 1908.

Zwischen dem Sensibilisator und dem biologischen Objekte geht während der Belichtung eine chemische Reaktion vor. Für das Zustandekommen dieser Reaktion ist (Bakterien, Enzyme, Toxine: v. Tappeiner, Jodlbauer) das Vorhandensein freien Sauerstoffes eine Notwendigkeit.

5. Man kennt Lichtwirkungen (auf Bakterien, Enzyme: Bie[1]), v. Tappeiner), für deren Zustandekommen das Vorhandensein von Sauerstoff überflüssig ist. Für solche Vorgänge läßt sich nicht sensibilisieren (Enzyme, Bakterien: v. Tappeiner).

Wie unten gezeigt werden wird, ist Punkt 5 infolge der Ergebnisse meiner Untersuchungen in theoretisch bedeutungsvoller Weise zu modifizieren. Übrigens geht aus den Punkten 1 bis 3 hervor, daß, soweit die Vollständigkeit der vorliegenden Untersuchungen ersehen läßt, mit dem Mechanismus der photographischen Sensibilisation durchgeführte prinzipielle Übereinstimmung herrscht. Was den Punkt 4 betrifft, ist schon hier hervorzuheben, daß, selbst wenn darauf gerichtete Untersuchungen erweisen sollten — was wahrscheinlich geschehen wird —, daß freier Sauerstoff keine Notwendigkeit für das Zustandekommen der photographischen Sensibilisation ist, dies doch keinen prinzipiellen Unterschied bezeichnen würde, indem das durch das Licht befreite Haloid in vielen Fällen dieselbe Rolle wird spielen können wie der molekulare Sauerstoff.

Daß das Licht beim Vorhandensein optischer Sensibilisatoren hämolysierend wirken kann, wurde schon 1905 von Saccharoff und Sachs[2]) und von Pfeiffer[3]) nachgewiesen, noch bevor es bekannt war, daß das Licht für sich allein — in angemessener Qualität und Quantität — dazu imstande ist. Die erstgenannten Forscher fassen den Prozeß — die Hämolyse — als einen durch den Sensibilisator beschleunigten Oxydationsprozeß auf. Dem Vorstehenden zufolge, und namentlich nachdem man nachgewiesen hat, daß Blutkörperchen im Vakuum durch Licht aufgelöst werden (siehe S. 476 u. 479), ist diese Auffassung als irrig zu betrachten.

---

[1]) V. Bie, Ist die bacterioide Wirkung des Lichtes ein Oxydationsvorgang? Mitteil. aus Finsens Med. Lichtinst. 9, 1905.

[2]) G. Saccharoff und H. Sachs, Über die hämolytische Wirkung der photodynamischen Stoffe. Münch. med. Wochenschr. 1905.

[3]) H. Pfeiffer, Über die Wirkung des Lichtes auf Eosin-Blutgemische. Wiener klin. Wochenschr. 1905.

Später haben Dreyer und Hanssen (l. c.) gezeigt, daß eine schnell abgebrochene Belichtung einer Blutkörperchenaufschwemmung mit Eosin durch gelbgrünes Licht nach einer Induktionszeit eine Hämolyse bewirkt, die zeitlich nach derselben Formel wie die Lichthämolyse ohne Sensibilisator abläuft.

Meine Versuche über den Mechanismus der Sensibilisation für Hämolyse stellte ich sämtlich an 2°/₀ Aufschwemmungen frischer, 3 mal durch Zentrifugieren mit erneuerter Kochsalzlösung gereinigter Ochsenblutkörperchen in 0,85°/₀iger *NaCl*-Lösung an. Die angewandten Farbstoffe und deren Konzentrationen waren:

Eosin (Tetrabromfluoresceinnatrium)	$^1/_{2500}$ mol.
Erythrosin (Tetrajodfluoresceinnatrium)	$^1/_{10000}$ „
Dichloranthracendisulfonsaures Natrium	$^1/_{200}$ „
Rose bengale (Tetrachlortetrajodfluoresceinnatrium)	$^1/_{50000}$ „
Methylenblau (Tetramethylthioninchlorhydrat) .	$^1/_{50000}$ „

Durch einleitende Versuche wurde vorerst festgestellt:

1. daß die Farbstoffe in diesen Konzentrationen im Dunkel die Blutkörperchen nur in ganz geringem Grade auflösten (weniger als 2°/₀ Hämolyse nach 2 Stunden);

2. daß die Farbstoffe, je für sich sowohl im Vakuum als in Luft belichtet, im Dunkel nicht hämolysierend wirkten. Mehrere der Farbstoffe verblaßten ziemlich stark bei Belichtung durch Quarz in Luft;[1])

3. daß Blutkörperchen, die erst 1 Stunde lang durch Glas und in Luft belichtet wurden und hierdurch einen Hämolysegrad von ca. 6°/₀ erreicht hatten, später nicht ferner gelöst wurden, wenn man ihnen im Dunkel einen — belichteten oder unbelichten — Farbstoff beimischte.

In den folgenden Versuchen wurde die Blutkörperchenaufschwemmung stets entgast, eventuell im Verein mit dem Sensibilisator, und zwar im Dunkel; nach Schütteln wurden ca. 2,5 ccm in eine ausgepumpte Quarzcuvette übergeführt. Übrigens war die Methodik die S. 477 angegebene. Wo die Methämoglobinbildung kräftig war, ist der Hämolysegrad der ungefähre, was durch „ca." angedeutet wird. — Blutk. = Blutkörperchen, Sens. = Sensibilisator, Vak. = Vakuum, Hämol. = Hämolysegrad, Methb. = Methämoglobinbildung.

---

[1]) Dreyer (l. c.) hat nachgewiesen, daß das für sich in Luft belichtete Erythrosin schwächer sensibilisierend wirkte als das unbelichtete.

23. Versuch vom 14. XI. 08.

Eosin. Bel. durch Glas 15′ und 60′.

	Hämol.
a) Blutk., Vak., Dunkel	0
do. do. Licht 15′	3
do. do. Licht 60′	6
b) Blutk. + Sens., Vak., Dunkel	0
do. do. do. Licht 15′	4
do. do. do. Licht 60′	5
c) Blutk. + Sens., Luft, Licht 15′	ca. 50, starke Methb.
d) Blutk., Luft, Licht 15′	2

Das Ergebnis dieses Versuches ist unstreitig: **das glasfiltrierte Licht hat schwach hämolysiert, sowohl im Vakuum als in Luft, das Eosin hat aber nur für die Hämolyse sensibilisiert, wo Luft (Sauerstoff) vorhanden war; im Verein mit der stark beschleunigten Hämolyse ist starke Methämoglobinbildung aufgetreten.**

Versuch 24 ist eine Wiederholung von 23c und d.

24. Versuch vom 16. XI. 08.

Eosin. Bel. durch Glas 30′.

	Hämol.
a) Blutk. + Sens., Luft, Licht 30′	ca. 100, starke Methb.
b) Blutk., Luft, Licht 30′	4, keine Methb. erkennbar

Daß eine Methämoglobinbildung in spektroskopisch nachweisbarem Umfange durch glasfiltriertes Licht erfolgen kann, wurde in früheren Versuchen dargelegt, wo das Oxyhämoglobin in viel geringerer Konzentration, in destilliertem Wasser aufgelöst, vorhanden war. **Das Eosin ist mithin ein Sensibilisator für die Methämoglobinbildung, wenn Sauerstoff vorhanden ist, und nur unter derselben Bedingung ein Sensibilisator für die Hämolyse, die an und für sich vom Sauerstoff unabhängig ist.**

25. Versuch vom 18. bis 19. XI. 08.

Dichloranthracendisulfonsaures Natrium (A) und Erythrosin (B).
Bel. durch Glas 30′.

	Hämol.	
	A.: Dichl. *Na*	B.: Erythrosin
a) Blutk. + Sens., Vak., Dunkel . . .	2	3
b) Blutk. + Sens., Vak., Licht 30′ . .	3	2
c) Blutk. + Sens., Luft, Licht 30′ . .	ca. 100, Methb.	ca. 100, Methb.
d) Blutk., Luft, Licht 30′	5	—

Der 25. Versuch zeigt dem Prinzip nach dasselbe: keine Sensibilisation für Hämolyse im Vakuum, Sensibilisation in Luft, von starker Methämoglobinbildung begleitet. Daß der Grad der Hämolyse in b nicht größer ist als in dem unter denselben Bedingungen unbelichteten a, rührt wahrscheinlich von Versuchsfehlern her.

26. Versuch vom 20. XI. 08.

Rose bengale (A), Methylenblau (B). Bel. durch Glas 30′ und 60′.

	Hämol.	
	A.: Rose beng.	B.: Methylenbl.
a) Blutk. + Sens., Vak., Dunkel . . .	6	3
do. do. do. Licht 30′ . .	7	3
b) Blutk. + Sens., Luft, Licht 30′ . .	ca. 100, Methb.	ca. 25, Methb.
do. do. do. Licht 60′ . .	—	ca. 100, Methb.
c) Blutk., Luft, Licht 30′	9	9

Das Resultat des 26. Versuches fällt ganz mit dem Ergebnisse der Versuche 23 bis 25 zusammen. Mit Bezug auf 5 optische Sensibilisatoren von weit verschiedener chemischer Konstitution ist somit der Nachweis geführt, daß ihr sensibilisierendes Vermögen hinsichtlich der Hämolyse davon abhängt, ob Sauerstoff vorhanden ist.

Die Lichthämolyse ist also ein Prozeß, der im Vakuum vorgehen kann, geschwind bei ultraviolettreichem Lichte, langsamer bei glasfiltriertem Lichte. Die gewöhnlichen optischen Sensibilisatoren beschleunigen den Prozeß nicht im Vakuum. In Luft wird die Lichthämolyse von Methämoglobinbildung begleitet; beide Prozesse werden in Luft durch das Vorhandensein optischer Sensibilisatoren enorm beschleunigt.

Auch die sogenannte Dunkelwirkung des Rose bengale (Konz. $^1/_{4000}$ mol.), des Eosins ($^1/_{200}$ mol.) und des Chloretum chinicum (gesättigte Lösung in 0,85 *NaCl*) erweist sich als auf dem Vorhandensein von Sauerstoff beruhend (im ganzen 6 Versuche). Nach 2 bis 3 Stunden trat bei diesen Konzentrationen totale Hämolyse und Methämoglobinbildung in denjenigen Cuvetten ein, zu denen die Luft Zutritt hatte, in den ausgepumpten Cuvetten aber keine Hämolyse. Der sauer reagierende Bisulphas chinicus hämolysierte dagegen im Dunkel und im Vakuum.

Entsprechend dem, was Busck (l. c.) mit Bezug auf die Hemmung der Sensibilisation durch Zusatz von Serum oder Eiweiß, und Jodlbauer (l. c.) durch Zusatz von Rohrzucker und anderen Kohlenhydraten fanden, beobachtete ich (27. Versuch), daß sowohl Traubenzucker als Rohrzucker die Sensibilisation des Eosins für Hämolyse zu hemmen oder sogar gänzlich aufzuheben vermag. Als Beispiel führe ich an:

27. Versuch vom 3. XII. 08.

2% Blutkörperchenaufschwemmung in isotonischen Flüssigkeiten mit $^1/_{2500}$ mol. Eosin und mit Luft durch Glas belichtet.

	Hämolysegrad		
	Bel. 10′	Bel. 20′	Bel. 0′
Blutk. in 0,85% $NaCl$ + Eosin . . .	ca. 60	ca. 100	0
„ „ 4,10% Traubenzucker + Eosin	0	0	0
„ „ 7,80% Rohrzucker + Eosin .	0	0	0

Aus solchen Beobachtungen geht hervor, daß es in verschiedener Weise — durch Entfernung des Sauerstoffes, durch Zusatz verschiedener Stoffe — möglich ist, die Reaktion zwischen Farbstoff und Blutkörperchen zu verhindern, die dem Sensibilisationsprozesse mutmaßlich zugrunde liegt und denselben einleitet, in ganz ähnlicher Weise, wie in Hübls Beobachtung (siehe oben) die Färbung des Eosins durch Bromsilber eine notwendige Bedingung für die Sensibilisation war.

Man hat nun nach den Ergebnissen der Versuche anzunehmen, daß die Reaktion, mittels deren Blutkörperchen durch Belichtung im Vakuum zersetzt werden, kein Reduktionsprozeß ist, wenigstens keine Abspaltung von Sauerstoff bewirkt. Denn alsdann müßte — der hier entwickelten Ansicht zufolge — das Vorhandensein eines oxydierbaren Sensibilisators den Prozeß im Vakuum beschleunigen können. Als Gegenprobe auf die Richtigkeit dieser Folgerung können wir nur die Möglichkeit untersuchen, im Vakuum für zwei unzweifelhafte Reduktionsprozesse zu sensibilisieren, mit denen wir oben Bekanntschaft machten: für die Umbildung des Hämatins in Hämochromogen und die Umbildung des Methämoglobins in reduziertes Hämoglobin. Wie die Versuche 28 und 29 zeigen, sind diese beiden Prozesse der Sensibilisation im Vakuum zugänglich.

28. Versuch vom 10. XII. 08.

Alkalische Hämatinlösung. Entgast. $^1/_{2500}$ mol. Eosin. Belichtet durch Glas im Vakuum.

a) Hämatin + Eosin. Vakuum	b) Hämatin. Vakuum
Bel. 10′: Hämochrom. I (555 $\mu\mu$) deutlich in dünner, intens. in dicker Schicht. Noch Andeut. von Hämatin.	Hämatin unverändert.
Bel. 15′: Hämochrom. I (555 $\mu\mu$)	Hämatin unverändert.
Bel. 40′: Die Umbildung in Hämochrom. fast vollständig. Die Farbe schön rotbraun.	555 $\mu\mu$ sichtbar in dünner, deutlich in dicker Schicht. Die Farbe schmutzig gelbbraun, mit rotem Anstrich.

29. Versuch vom 11. XII. 08.

Methämoglobinlösung, durch Belichtung einer Oxyhämoglobinlösung durch Quarz gebildet. Entgasung. Eosin $^1/_{2500}$ mol. Belichtet durch Glas im Vakuum.

a) Methämoglobin + Eosin. Vakuum	b) Methämoglobin. Vakuum
Bel. 10′: Beginn des red. Hb. Die Farbe röter.	Keine sichere Veränderung des Spektrums. Die Farbe bierbraun.
Bel. 20′: 630 verschwunden. Der Streifen des red. Hämoglobins kräftig, noch geteilt.	Andeut. red. Hämoglobins. Die Farbe noch nicht so rot wie in a nach 10′ langer Bel.
Bel. 40′: Die Reduktion fast vollständig.	630 noch schwach sichtbar in dünner Schicht. Die Red. fortschreitend, doch nicht soweit wie in a nach 20′.

Hierdurch gewinnt die Anschauung die Wahrscheinlichkeit für sich, daß nur solche photochemischen Reaktionen der optischen Sensibilisation im Vakuum zugänglich sind, bei denen entweder durch abgespaltenen Sauerstoff oder in anderer Weise eine Oxydation des Sensibilisators bewerkstelligt werden kann.

Die photobiologische Sensiblisation ist also prinzipiell mit der photographischen Sensibilisation zu parallelisieren, *insofern* sie sich auf Reduktionsprozesse gründet, was sie möglicherweise sehr oft tut. Da die biologischen Objekte aber bedeutend verwickelterer Natur sind als die photographischen, und da die Erscheinungen, die bei den ersteren beobachtet werden — Tod, Bewegung, Destruktion der Fermenttätigkeit, Austreten des Blutfarbstoffes usw. — gelegentlich und gleichzeitig auch durch Lichtreaktionen hervorgerufen werden können, die der Sensibilisation unzugänglich sind, wird eine vollständige und unbedingte Identifizierung der Prozesse unzweckmäßig und irreleitend sein.

Es ist z. B. möglich, daß die chemische Reaktion, auf welcher die Lichthämolyse beruht — Fettsäureabspaltung aus Lecithin? — durchaus nicht geschwinder verläuft im Versuche 23c als im Versuche 23d, daß aber die um viele Male stärkere Hämolyse in c der anderen gleichzeitig verlaufenden Reaktion zu verdanken wäre, der Methämoglobinbildung nämlich, für

die das Eosin unzweifelhaft sensibilisiert. In dieser Beziehung ist es ein bemerkenswerter Umstand, daß fast alle methämoglobinbildenden Stoffe und Eingriffe zugleich auch hämolytisch wirken.

Ist diese Erklärung richtig, so muß man also sagen, daß die Zersetzung eines roten Blutkörperchens durch Belichtung ein praktisch wahrnehmbares Symptom von zwei eventuell gleichzeitig verlaufenden chemischen Reaktionen ist, von denen nur die eine sich als optischer Sensibilisation zugänglich erweist.

Hauptergebnisse.

Der genuine Blutfarbstoff wird durch Licht in Methämoglobin umgewandelt, dieses zersetzt sich weiter, u. a. in Hämatin. Bedingung für den Eintritt der Reaktion ist das Vorhandensein von Sauerstoff, wogegen das reduzierte Hämoglobin lichtbeständig ist.

Die Wirkung ist an Strahlen von der Wellenlänge sowohl über als unter 310 $\mu\mu$ gebunden, in durchaus vorherrschendem Maße aber an die letzteren.

Die Methämoglobinbildung, die in demselben Umfang erfolgt — das Oxyhämoglobin möge in den Blutkörperchen eingeschlossen vorkommen oder gelöst sein — verläuft, was die Belichtungsdauer betrifft, gemäß der Formel für monomolekulare Reaktionen.

Das Methämoglobin wird im Vakuum durch Belichtung in reduziertes Hämoglobin übergeführt; im Dunkeln bewirkt der abgespaltene Sauerstoff eine Oxyhämoglobinbildung.

Hämatin wird durch Licht zu Hämochromogen reduziert; im Dunkeln bildet sich wieder Hämatin.

Das Kohlenoxydhämoglobin wird durch Belichtung zum Teil in reduziertes Hämoglobin umgewandelt; im Dunkeln wird das Kohlenoxydhämoglobin zurückgebildet.

Blutkörperchen werden durch Belichtung gelöst sowohl in Luft, als im Vakuum, am stärksten durch Strahlen, die eine geringere Wellenlänge als 310 $\mu\mu$ be-

sitzen, in nachweisbarem Grade aber doch auch durch die sichtbaren Strahlen.

Zusatz von Farbensensibilisatoren beschleunigt an der Luft sämtliche untersuchte Lichtreaktionen des Blutes, im Vakuum jedoch nur solche Reaktionen, mittels deren Sauerstoff abgespalten wird. Die Rolle, die der Sensibilisator spielt, ist die eines lichtabsorbierenden, leicht oxydierbaren Stoffes.

Bemerkungen zur Deutung der Blutkörperchen-Kataphorese.

Von

Rudolf Höber.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 16. Juni 1909.)

Erst jetzt bin ich auf eine in dieser Zeitschrift am 24. Dezember 1908 veröffentlichte Mitteilung von Spiro und Henderson[1]) aufmerksam geworden, in welcher die Herren zu meinen Untersuchungen über die Kataphorese der Blutkörperchen und die daran geknüpften Bemerkungen[2]) Stellung nehmen. Die Sachlage ist kurz folgende: Aus den bekannten Erscheinungen beim Einleiten von CO_2 in Blut, welche von Zuntz, Gürber, Koeppe, Hamburger u. a. beobachtet worden sind, ist der Schluß gezogen worden, daß die Blutkörperchen-Oberfläche für Anionen durchlässig ist. Wenn das zutrifft, dann müssen die Blutkörperchen, in einer anionenreichen Lösung suspendiert, negative, in einer anionenarmen Lösung dagegen positive Ladung führen. Das ist, wie ich zeigte, in der Tat der Fall, aber nur unter der Bedingung, daß CO_2 eingeleitet wird. Dies Resultat war nicht von vornherein zu erwarten. Die CO_2-Zufuhr ist zwar aus den verschiedenen Gründen, welche von Zuntz, Gürber und Koeppe angegeben worden sind, für die von diesen geübte Methode des Nachweises der Anionendurchlässigkeit unbedingt nötig; mein Nachweis der Anionendurchlässigkeit durch Kataphorese erscheint aber zunächst an die Erfüllung dieser Vorbedingung nicht gebunden, sondern allein die Größe der Anionenkonzentration im Medium der Blutkörperchen könnte entscheidend sein. Wenn sich aber in Wirklichkeit die CO_2-Zufuhr doch als notwendig erweist, um die vermuteten Ladungsänderungen hervortreten zu lassen, so beweist das nach meiner Meinung, daß erst durch die Kohlensäure die Zelloberfläche ihre Durchlässigkeit für Anionen erhält.

Spiro und Henderson haben nun einen großen Teil der von den verschiedenen genannten Autoren beobachteten, zwischen Blutkörperchen

---

[1]) Diese Zeitschrift 15, 114, 1908.

[2]) Pflügers Archiv 101, 627, 1904 und 102, 196, 1904. Physikal. Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl., S. 307.

und Medium sich abspielenden chemischen Umsetzungen an einfachen anorganischen Modellen nachgeahmt, bei denen von einer Membran, deren Durchlässigkeit durch CO_2 geändert wird, nicht gut die Rede sein kann, und anschließend an diese Feststellungen schreiben die Autoren: „Im Lichte dieser Erwägung erscheint der Vorgang nicht, wie Höber angenommen hatte, als einer, bei dem die Durchlässigkeit der Membran unter dem Einfluß der Kohlensäure zu einer funktionellen Selektion (der Anionen. R. H.) führt, sondern vielmehr als ein einfacher physikalisch-chemischer Vorgang, der nur etwas modifiziert ist durch die noch nicht erklärte Eigentümlichkeit der Membran“ (nämlich undurchlässig für Kationen zu sein). Diese Folgerung der Autoren aus ihren Versuchen halte ich nicht für zutreffend. Wenn die Blutkörperchen in ihrem Medium in Gegenwart von CO_2 dieselben chemischen Umsetzungen und Verschiebungen darbieten wie die Modelle von Spiro und Henderson, so ist es zwar gewiß berechtigt, zu sagen: wir haben es dort, wie hier, mit den gleichen Vorgängen zu tun, und es liegt dann auch gewiß kein Grund zu der Annahme vor, daß unter diesen Bedingungen die Oberfläche der Blutkörperchen sich gegen die Anionen anders verhält als die Oberfläche in den Modellen von Spiro und Henderson. Damit bin ich ganz einverstanden. Aber die von mir speziell beobachteten Ladungserscheinungen sind ja von Spiro und Henderson überhaupt nicht in ihren Modellstudien berücksichtigt, und gerade erst die Kataphorese-Erscheinuugen, das verschiedene kataphoretische Verhalten in Anwesenheit und in Abwesenheit von CO_2 konnte überhaupt erst die von vornherein gar nicht erwartete Anschauung aufnötigen, daß die Permeabilität in beiden Fällen verschieden ist. Ich sehe nicht, worin die Versuche von Spiro und Henderson etwas hierauf Bezügliches besagen. Ich halte mich daher auch jetzt noch für berechtigt, auf Grund der Tatsache, daß CO_2 zu den physiologisch und zu verschiedenen Zeiten in verschiedenen Mengen produzierten Stoffen gehört, eine funktionelle Selektion der Anionen von seiten der Blutkörperchen-Oberfläche anzunehmen, ohne aber dabei ausschließen zu wollen, daß auch das Zustandekommen dieser funktionellen Selektion ein relativ einfacher physikochemischer Vorgang ist.

Es ist noch ein zweiter Einwand gegen meine Beweisführung des Bestehens einer Anionenpermeabilität erhoben worden, den ich bei dieser Gelegenheit gleich mit zur Sprache bringen möchte. Overton[1]) hat darauf aufmerksam gemacht, daß eigentlich gar nicht einzusehen ist, wie die von mir unter dem Einfluß von CO_2 beobachteten Ladungserscheinungen reversibel sein können. In der Tat, wenn Blutkörperchen, welche in einer anionenarmen Lösung suspendiert sind, durch CO_2-Zuleitung anionendurchlässig werden und, indem nun einige Anionen längs des Konzentrationsgefälles aus ihnen herausdiffundieren, positive Ladung annehmen, so sollte diese Ladung auch beibehalten werden, wenn die Kohlensäure wieder ausgetrieben und damit die Blutkörperchen-Oberfläche

[1]) Nagels Handbuch der Physiologie 2, 843 bis 844.

wieder für Anionen undurchlässig gemacht wird. Mögen die chemischen Prozesse, welche sich als Begleiterscheinung der CO_2-Zufuhr abspielen, sowie die anschließenden Diffusionen der einzelnen Ionensorten im wesentlichen reversibel sein, so behält doch das Konzentrationsgefälle für die Gesamtheit der Anionen unter allen Umständen seine Richtung vom Blutkörperchen Innern nach außen hin, und die einmal längs dieses Gefälles ausgetretenen Anionen können deshalb auch nicht alle von selbst zurück. Ich muß also zugeben, daß hier eine von mir übersehene Schwierigkeit für meine Deutung der kataphoretischen Vorgänge vorliegt. Dennoch glaube ich nicht, daß deshalb die Deutung zu fallen braucht. Ich habe auseinandergesetzt, daß, wenn in einer anionenarmen Lösung die Blutkörperchen unter der CO_2-Wirkung positive Ladung annehmen, dies der Effekt zweier Vorgänge ist, 1. der Auswanderung einiger Anionen, 2. der Positivierung der ursprünglich negativen Plasmahaut-Kolloide durch die Kohlensäure, und daß andererseits, wenn in einer anionenreichen Lösung die Blutkörperchen in Gegenwart von CO_2 negative Ladung führen, dies davon herrührt, daß die Positivierung der Plasmahaut-Kolloide durch die Kohlensäure von der durch Anioneneinwanderung erzeugten negativen Ladung überkompensiert sind. Dann ist es aber auch möglich, daß die Blutkörperchen, weche in der anionenarmen Lösung positiv geworden waren, nach Entfernung des CO_2 wieder negativ werden, indem die Plasmahaut-Kolloide wieder negativ werden und nun deren Ladung die positive Ladung, welche von dem irreversiblen Herausdiffundieren einiger Anionen herrührt, überkompensiert. Dann wäre also der Ladungsvorgang nur scheinbar reversibel, im Gegensatz zu den die CO_2-Zufuhr begleitenden, wirklich reversiblen chemischen Vorgängen. Ob diese Erklärung das Richtige trifft, darüber können meine bisherigen rein qualitativen Kataphorese-Versuche keine Auskunft geben.

Über den Gaswechsel der Insekten und dessen Beziehung zur Temperatur der Luft.

Von

B. Slowtzoff.

(Aus der militär.-medizin. Akademie zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 15. Juni 1909.)

Bei meinen Untersuchungen über den Hungerstoffwechsel verschiedener Insekten (Maikäfer, Mistkäfer und Hummeln) und niederer Tiere (Weinbergschnecken) konnte ich mehrmals sehen, daß die Gewichtsverluste während der heißen Tage viel größer als bei kaltem Wetter waren. Diese Tatsachen beweisen, daß der Stoffwechsel dieser Tiere in einem engen Zusammenhange mit der Temperatur der Luft steht. Um aber diesen Zusammenhang näher zu studieren, mußte man genügend Versuche anstellen, und es schien mir zweckmäßig, zahlenmäßige Bestimmungen der Kohlensäure- und Wasserausscheidung der Insekten bei verschiedener Temperatur vorzunehmen. Die Frage schien um so interessanter, als man über den Gaswechsel der Insekten überhaupt noch sehr wenig weiß. Man kann hier nur an die interessanten Beobachtungen von Bütschli (6), Schulz (7) und Vernon (8) erinnern. Vernon konnte zeigen, daß mit zunehmender Temperatur auch der Gaswechsel steigt, aber die Erhöhung der Kohlensäureproduktion geht nicht immer dem Steigen der Temperatur parallel. Es gibt ein Temperaturintervall von ca. 12°, bei dem der Gaswechsel derselbe bleibt. So hält sich z. B. die Kohlensäureproduktion beim Regenwurm zwischen 10 und $22^1/_2$°, bei den Schnecken zwischen 20 und 30° auf gleicher Höhe. Bei der Schwabe (Periplaneta orientalis) konnte Vernon diese Gesetzmäßigkeit nicht bestätigen. Bütschli macht ebenfalls mehrere Angaben über das Steigen der Kohlensäureabgabe und der Temperatur.

Die meisten Versuche wurden im Sommer 1904 und 1907 gemacht und betreffen hauptsächlich die Mistkäfer und Ameisen.

Die erste Reihe von Versuchen wurde folgenderweise angestellt. Eine Anzahl von Käfern wurde in ein breites, horizontal liegendes Glasrohr eingelegt. Die beiden Enden wurden mit durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Von einer Seite wurde das Innere des Rohres mit vier zweihalsigen Wulffschen Gefäßen (mit konzentrierter Kalilauge und Schwefelsäure gefüllt) verbunden, von der anderen Seite mit zwei gefüllten Kaliapparaten und Chlorcalciumröhren, wie man sie gewöhnlich für Elementaranalyse braucht; durch Verbindung mit einer Wasserstrahlpumpe konnte man Luft durch den ganzen Apparat saugen. Die Luft wurde auf einer Seite von Wasserdämpfen und Kohlensäure befreit und die gereinigte Luft durch den mit den Käfern gefüllten Raum geführt. Die von den Käfern ausgeschiedene Kohlensäure und das Wasser wurde in dem Kaliapparat und dem Chlorcalciumrohre quantitativ gesammelt. Nach einer bestimmten Zeit wurden die Apparate gewogen, und aus der Gewichtsdifferenz konnte man die Menge der Kohlensäure und des Wassers bestimmen.

Aus den zahlreichen dazu gehörenden Versuchen kann ich einige Versuchsprotokolle als Beispiele anführen.

Versuch vom 20. V. 04. 20 Stück Mistkäfer (Gesamtgewicht 18,4 g) wurden in den Apparat auf 21 Stunden eingelegt. Die Temperatur der Luft 20° C, Barometerstand 760 mm, CO_2 0,2220 g, H_2O 0,1624 g. Auf 100 g Gewicht und 24 Stunden berechnet macht das 1,38 g CO_2 und 1,14 g H_2O.

Versuch vom 22. V. 04. 20 Stück Mistkäfer von demselben Gewicht wurden in dem Apparat 22 Stunden gehalten. $CO_2 = 0{,}3800$ g, $H_2O = 0{,}2758$ g, was auf 100 g Gewicht und 24 Stunden berechnet 2,24 g CO_2 und 1,63 g H_2O ausmacht.

Versuch vom 1. VI. 04. 13 Stück Käfer (Gewicht 12,49 g) wurden in dem Apparat 6 Stunden gehalten. Temperatur 20° C, Bar. 768 mm. CO_2-Zuwachs 0,0700 g, für H_2O 0,0460 g, was pro 100 g und 24 Stunden 2,24 g CO_2 und 1,49 g H_2O ausmacht.

Versuch vom 6. VI. 04. 23 Käfer (Gewicht 20,12 g) verweilten in dem Apparat 3 Stunden bei der Temperatur von 20° C und Bar. 768 mm. CO_2 ausgeschieden 0,0564 g, H_2O-

Ausscheidung 0,0570 g, was pro 100 g und 24 Stunden berechnet 2,23 g CO_2 und 2,23 g H_2O ausmacht.

Im ganzen habe ich ca. 20 solche Versuche gemacht und kann die gewonnenen Resultate in folgender Tabelle zusammenstellen.

Ausscheidung pro 24 Std. u. 100 g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CO_2	1,38	2,24	2,24	2,23	2,00	1,80	1,70	1,60	1,72	1,60	1,60	1,60
H_2O	1,14	1,63	1,49	2,23	2,00	1,10	2,10	2,14	1,80	1,90	1,70	1,10

Im Mittel aus diesen Versuchen konnte ich die CO_2-Ausscheidung pro 100 g Lebendgewicht und 24 Stunden auf 2,02 g berechnen. Die Menge des Wassers variierte viel bedeutender von 1,14 g bis 2,23 g. Leider konnte man nach der oben beschriebenen Weise die Versuche nicht länger als 6 bis 10 Stunden ausdehnen.

Bei den folgenden Versuchen habe ich deswegen die Methodik geändert. Ich begnügte mich mit dem Messen der Kohlensäureabgabe. Das eine Ende des Rohres wurde mit Wulffschen Gefäßen (mit Barytlösung gefüllt) verbunden, das andere Ende mit ebensolchen Gefäßen, welche mit aliquoten Teilen $^n/_{10}$-Barythydratlösung gefüllt waren. Die von der Kohlensäure befreite Luft ging in das Rohr hinein und brachte die von den Käfern ausgeatmete Luft in die gemessene Barytlösung hinein. Nach der Beendigung des Versuches konnte man die Menge des gebundenen Baryt titrieren und daraus die Menge der Kohlensäure berechnen. Um die Wirkung der Temperatur auf den Gaswechsel zu studieren, wurde das mit den Käfern gefüllte Rohr in einem mit Thermoregulator verbundenen Wasserbade auf die gewünschte Temperatur erwärmt.

Um eine Vorstellung von dem Sauerstoffverbrauch zu gewinnen, haben wir auch eine Reihe von Versuchen zu dessen Bestimmung gemacht. Eine Menge von Käfern wurde in eine große Flasche eingelegt und dann die Zusammensetzung der in der Flasche befindlichen Luft von Zeit zu Zeit mit dem Zunz-Geppertschem Apparat analysiert. Wenn man die Zusammensetzung der Luft vor und nach dem Versuche kennt, so kann man sich natürlich eine Vorstellung über den Verbrauch an

Sauerstoff und die Kohlensäureabgabe machen und daraus natürlich den respiratorischen Quotienten berechnen.

Aus solchen Versuchen konnte man feststellen, daß bei den Mistkäfern der respiratorische Quotient bei verschiedener Temperatur von 0,784 bis 0,813 variiert, also im Mittel ungefähr 0,798 ist, daß also die Kohlensäureausscheidungskurve im ganzen immer parallel dem Sauerstoffverbrauch folgt. Bei den Versuchen an Ameisen war der respiratorische Quotient immer höher 0,90, sogar 1,00.

Sehr interessante Zahlen wurden auch mit gewöhnlichen Fliegen bekommen. Wenn man diese Tiere mit Zucker füttert, so steigt der respiratorische Quotient bis auf 1,0, wenn man aber dieselbe Fliege auf einem Stückchen gekochten Fleisch ein paar Tage hält, so sinkt der Quotient auf 0,8.

Die Resultate meiner Versuche über die CO_2-Ausgabe bei verschiedenen Temperaturen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tag und Monat	Temperatur der Luft	Menge der Käfer	Die Zeit des Versuches	Verbrauch an $^n/_5$-$Ba(OH)_2$	Der Verbrauch an $Ba(OH)_2$ pro 100 g u. Std.	Tag und Monat	Temperaturen	Die Zeit des Versuches	Verbrauch an $^n/_5$-$Ba(OH)_2$	Der Verbrauch an $^n/_5$-Ba(OH) pro 1 Std.	Der Verbrauch an $^n/_5$-Ba(OH) pro 10 Stdn.
28. V.	18	10	50	1,20	1,44	9. VI.	48	10	30	1,65	3,30
29. V.	24	10	60	1,50	1,55	11. VI.	16	20	60	3,60	1,80
29. V.	24	10	40	1,20	1,80	12. VI.	0	10	60	0,60	0,60
31. V.	27	30	60	5,60	1,87	14. VI.	0	10	60	0,70	0,70
1. VI.	15	30	60	4,80	1,60	14. VI.	12	10	60	1,20	1,20
3. VI.	27	30	60	5,60	1,87	15. VI.	44	10	60	3,20	3,20
3. VI.	24	20	60	2,60	1,30	15. VI.	12	10	60	1,50	1,50
4. VI.	10	10	60	1,40	1,40	21. VI.	52	10	20	0,60	1,80
6. VI.	10	10	60	1,00	1,40	21. VI.	55	10	20	0,20	0,60
7. VI.	24	10	60	1,10	1,10						
8. VI.	12	20	60	2,80	1,40						
9. VI.	16	10	60	1,40	1,40						
9. VI.	0	20	60	2,00	1,00						

Das mittlere Gewicht meiner Tiere (Mistkäfer) betrug 0,876 g. Man kann also die Ausscheidung der Kohlensäure in Gramm pro 24 Stunden und 100 g Lebendgewicht umrechnen, da jedes Kubikzentimeter $^n/_{10}$-N_2SO_4 0,0044 g CO_2 entspricht.

Eine solche Umrechnung ist in der folgenden Tabelle gemacht.

Nummer des Versuches	Temperatur	Verbraucht $^{n}/_{10}$-$Ba(OH)_2$ pro 10 Stück und 1 Std.	Mittel	Die entsprechende Menge der CO_2 in g	CO_2 in g pro 100 g und 24 Std.
21	0	1,00			
24	0	0,60	0,77	0,0034	0,82
25	0	0,70			
17	0	0,80			
15	0	1,40	1,20	0,0053	1,44
16	10	1,00			
26	12	1,20			
28	12	1,50	1,37	0,0060	1,64
19	12	1,40			
11	15	1,60	1,60	0,0070	1,92
12	15	1,60			
20	16	1,40	1,60	0,0070	1,92
23	16	1,80			
7	18	1,44	1,44	0,0062	1,70
8	24	1,50			
14	24	1,30	1,42	0,0061	1,70
18	24	1,10			
9	24	1,80			
10	27	1,87	1,87	0,0082	2,27
13	27	1,87			
27	44	3,20	3,20	0,0131	3,59
22	48	3,30	3,30	0,0145	3,98
29	52	1,80	1,80	0,0079	2,16
30	55	0,60	0,60	0,0024	0,66

Wir sehen also ganz deutlich, daß die Menge der CO_2 mit der Temperatur steigt. Bei 0° C geht der Gaswechsel noch langsam, er steigt allmählich bis 12° C. Dann bleibt er bis 24° C fast auf derselben Höhe und steigt dann wieder allmählich. Bei 48° C wird er am größten, dann sinkt er ganz schnell ab. Bei 52 bis 55° C scheinen die Tiere einen Hitzschlag zu bekommen und sterben bald vor Hitze.

Wir sehen also, daß es auch bei diesen Tieren ein Temperaturintervall gibt, in dem der Gaswechsel nicht steigt; solche Angaben kann man auch bei Bütschli, Schulz und Vernon finden.

Wir haben analoge Versuche mit Ameisen gemacht. Die erhaltenen Zahlen kann man folgender Tabelle entnehmen.

Nummer des Versuches	Temperatur	Verbraucht $^{n}/_{10}$-$Ba(OH)_2$ pro 100 Stück und 1 Std.	Mittel	Die entsprechende Menge der CO_2 in g	CO_2 in g pro 100 g und 24 Std.
37	0	0,01	0,01	0,00044	0,106
38	0	0,01			
39	10	0,025	0,025	0,0010	0,240
40	10	0,025			
41	20	0,20	0,19	0,0084	2,016
42	20	0,18			
43	24	0,20	0,20	0,0088	2,112
44	24	0,20			
45	27	0,20	0,20	0,0088	2,112
46	27	0,20			
47	34	0,20	0,20	0,0088	2,112
48	34	0,20			
49	44	0,40	0,40	0,0176	4,224
50	44	0,40			
51	48	0,44	0,44	0,0196	4,707
52	48	0,44			
53	52	0,01	0,01	0,00044	0,106
54	52	0,01			

Hier sieht man wieder ein Temperaturintervall von ca. 14° C, in welchem die CO_2-Ausgabe nicht steigt.

Die angestellten Versuche berechtigen meines Erachtens zu folgenden Schlüssen:

1. Die CO_2-Ausgabe bei Insekten steigt mit der Temperatur der Luft.

2. Es gibt ein Temperarurintervall, in dem der Gaswechsel auf derselben Höhe zu bleiben scheint.

3. Dieses Intervall beträgt ca. 12° C und liegt bei verschiedenen Insekten auf verschiedener Höhe.

4. Der respiratorische Quotient beim Mistkäfer beträgt 0,80, bei Fliegen 1,0, bei Ameisen 0,90 und scheint wie bei den höheren Tieren von der Nahrung abzuhängen.

Literatur.

1. Slowtzoff, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 1, 1903.
2. Slowtzoff, Ibid. 4, 460, 1903.
3. Slowtzoff, Ibid. 6, 170, 1904.
4. Slowtzoff, Ibid. 6, 163, 1904.
5. Slowtzoff, Salkowski-Festschrift 1904.
6. Bütschli, Arch. f. Anatomie 1874, 384.
7. H. Schulz, Über die Abhängigkeitsverhältnisse zwischen Stoffwechsel und Temperatur bei Amphibien und Insekten. Inaug.-Dissertation, Bonn 1879.
8. Vernon, Journ. of Physiol. 21, 443, 1897.

Beiträge zur vergleichenden Physiologie des Hungerstoffwechsels.

Von

B. Slowtzoff.

V. Mitteilung.

Der Hungerstoffwechsel der Mistkäfer (Geotrupes stercoralis).

(Aus der militär.-medizin. Akademie zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 15. Juni 1909.)

Ich möchte hier ganz kurz die Hauptzüge meiner Untersuchung über den Hungerstoffwechsel der Mistkäfer erörtern. Eine Menge von Käfern wurde einige Tage reichlich mit Mist gefüttert und in zwei Teile geteilt, die eine Gruppe (Kontrolltiere) wurde gewogen und mit Alkoholdämpfen getötet, bei 110° getrocknet und gepulvert. Die andere Gruppe ließ ich in Glasgefäßen hungern, sie wurde täglich bis zum Eintreten des Todes gewogen. Dann wurde die zweite Partie auch in Alkohol aufbewahrt, dann gewogen, getrocknet und gepulvert. Von beiden Portionen wurden Analysen gemacht, und zwar die Menge der Trockensubstanz, der Asche, der Eiweißkörper, Fette und des Chitins bestimmt. Das mittlere Gewicht von unseren Mistkäfern betrug 0,8764 g (Maximum 0,9980 g, Minimum 0,8070 g). Bis zu dem Tage des Hungertodes fiel es auf 0,6879 g. Im ganzen wurden drei Reihen von Versuchen ausgeführt. Die Gewichtsverluste der Tiere während des Hungerns betrugen I. 20,74 %, II. 27,94 %, III. 22,12 % und IV. 16,12 % des ursprünglichen Gewichtes, was im Mittel 21,73 % ausmacht.

Die Dauer des Lebens während der Karenzzeit betrug im Mittel 8 Tage, in zwei Reihen 5 Tage und in zwei anderen 11 Tage. Wie hoch die täglichen Gewichtsverluste sind, kann

man aus Tabelle I ersehen. Die anderen Reihen zeigten dieselbe Gesetzmäßigkeit. Zuerst werden die Gewichtsverluste ziemlich groß, dann werden sie allmählich kleiner. Die verschiedenen Gewichtsverluste an einigen Tagen (4. und 8. Tag) stehen in einem engen Zusammenhang mit der Temperatur der Luft. An diesem Tage war die Temperatur besonders hoch und der Stoffwechsel stieg.

Tabelle I.

Tag und Monat	Tag des Hungerns	Gesamt-Gewicht g	Gewichts-verlust g	Gewichts-verlust %	Mittlerer Gewichts-verlust %
30. VI.	—	18,40	—	—	—
1. XII.	1	17,80	0,60	3,75	5,21
2. VII.	2	16,90	0,90	4,88	
3. „	3	15,61	1,29	7,00	
4. „	4	15,29	0,32	1,74	1,24
5. „	5	15,06	0,23	1,25	
6. „	6	14,96	0,10	0,54	
7. „	7	14,70	0,26	1,41	0,65
8. „	8	14,63	0,07	0,37	
9. „	9	14,50	0,13	0,71	
10. „	10	14,33	0,17	0,81	

Die Menge der Trockensubstanz betrug für die Kontrolltiere 36,12%, für Hungertiere sogar 43,81%. Die beiden Zahlen scheinen größer zu sein, als sie bisher bei den anderen Insekten beobachtet worden sind.

Bei der Untersuchung der chemischen Zusammensetzung dieses Materials bekam man folgende Zahlen, die in der Tabelle II für Trockensubstanz und für die frische Substanz berechnet sind. Um aber die Verteilung verschiedener Stoffe bei Karenz- und Kontrolltieren besser zu ermitteln, habe ich in der Tabelle III die Zahlen auf 100 Stück Karenz- und Kontrolltiere berechnet.

Die Hauptverluste beziehen sich auf Fette (62,82%) und Wasser (30,58%). Die Eiweißstoffe werden bis 19,32% gespalten, dessenungeachtet vermindert sich die Menge der organischen Substanzen nur auf 4,77%. Das hängt damit zusammen, daß die Oxydationsprodukte (Extraktivstoffe) schlecht

ausgeschieden werden, und wir sehen, daß die Menge der Extraktstoffe um 57,49 % steigt. Die Menge des Chitins bleibt ganz unverändert, was auch für andere Insekten schon mehrmals festgestellt ist.

Wir wollen noch die Veränderungen in dem Stickstoff- und Phosphorgehalt der Kontroll- und Karenztiere näher studieren.

Tabelle II.

	100 g Trockensubstanz enthalten g	100 g frische Substanz enthalten g	100 g Trockensubstanz enthalten g	100 g frische Substanz enthalten g
	Kontrolltiere		Karenztiere	
Wasser	0	63,88	0	56,19
Trockensubstanz	100,00	36,12	100,00	43,81
Gesamtasche .	3,26	1,18	3,23	1,41
Wasserlösl. Asche	2,22	0,79	1,79	0,97
Wasserunlösl. „	1,04	0,39	1,00	0,44
Organische Substanz	96,74	34,94	96,77	42,40
Fette	10,98	3,96	4,31	1,88
Extraktivstoffe	15,47	5,58	25,64	11,23
Eiweißkörper .	50,90	18,07	46,07	20,23
Chitin	20,30	7,33	20,75	9,06

Tabelle III.

	100 Stück Kontrolltiere enthalten g	100 Stück Karenztiere enthalten g	Differenz g	Gewichtsveränderung in %
Gesamtgewicht	87,64	68,79	— 18,85	21,58
Wasser	55,69	38,66	— 17,03	30,58
Trockensubstanz	31,65	30,13	— 1,52	4,80
Gesamtasche .	1,03	0,97	— 0,06	5,82
Wasserlösl. Asche	0,70	0,67	— 0,03	4,30
Wasserunlösl. „	0,33	0,30	— 0,03	9,09
Organische Substanz	30,62	29,16	— 1,46	4,77
Fette	3,47	1,29	— 2,18	68,82
Extraktivstoffe	4,89	7,71	+ 2,82	57,47
Eiweißkörper .	17,13	13,82	— 3,31	19,32
Chitin	6,23	6,24	+ 0,01	0

Tabelle IV.

	100 Stück Kontrolltiere enthalten g	100 Stück Karenztiere enthalten g	Absolute Veränderung	Veränderung %
Gesamt-N . . .	3,672	3,648	— 0,034	— 9,28
N des Äther-Extraktes . .	0,006	0,009	+ 0,003	+ 50,00
N des Wassers-Extraktes . .	0,232	0,788	+ 0,456	+ 196,5
N der Eiweißkörper . . .	2,921	2,256	— 0,665	— 22,87
N des Chitins .	0,513	0,595	+ 0,082	+ 15,1

Tabelle V.

	100 Stück Kontrolltiere enthalten g	100 Stück Karenztiere enthalten g	Absolute Veränderung	Veränderung %
Gesamt-P_2O_5 .	0,546	0,482	— 0,064	— 11,72
P_2O_5 des Äther-Extraktes . .	0,025	0,006	— 0,019	— 76,00
P_2O_5 der Eiweißkörper . . .	0,408	0,272	— 0,136	— 33,55
P_2O_5 des Wassers-Extraktes . .	0,113	0,204	+ 0,091	+ 44,60
Die Menge des Phlorogluoidniederschlages (die Menge der Pentose) . .	0,076	0,07	0	0

Aus der Tabelle IV ist deutlich ersichtlich, daß fast $^1/_5$ aller Eiweißkörper bei dem Hungern angegriffen ist. Dieser Verbrauch scheint phosphorhaltige Eiweißkörper zu betreffen, welche bis auf 30 % der ursprünglichen Menge gespalten sind. Die Menge der Pentosen scheint aber dieselbe zu bleiben. Die Lecithinverbindungen werden auch stark angegriffen, was den Veränderungen des in Äther löslichen P_2O_5 entspricht.

Wenn man die Menge der Eiweißkörper, der Fette und der Kohlenhydrate auf deren Energie berechnet und den Gesamtenergieverlust bei der Karenz bestimmt, so erhält man folgende Werte. Die Mistkäfer verlieren bei der Karenz 21,22 %

der gesamten in ihren Körper gespeicherten Energie, so daß der Energieverbrauch pro Kilo Lebendgewicht und 24 Stunden 37,41 Cal. und pro Kilo und Stunde berechnet 1,56 Cal. beträgt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Die Mistkäfer sterben bei absoluter Karenz in 5 bis 11 Tagen und verlieren dabei ca. 21,73 % ihres ursprünglichen Gewichtes.

2. Die Verluste beziehen sich hauptsächlich auf Wasser und Fette.

3. Die Menge der verbrauchten Energie pro Kilo Gewicht und 24 Stunden beträgt 39,41 Cal.

4. Die Menge der während der Karenz verbrauchten Eiweißkörper beläuft sich auf etwa 1/5 und die der phosphorhaltigen Eiweißkörper auf ca. 1/3 der ursprünglichen Menge.

5. Die Menge der Pentosen (aus dem Phloroglucidniederschlage berechnet) und die des Chitins scheint sich während der Karenz nicht zu verändern.

Über Dünndarmresorption.

Von

Ernst Frey.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Jena.)

(Eingegangen am 16. Juni 1909.)

Die Resorption im Dünndarm setzt sich aus zwei Vorgängen zusammen, dem mit dem Mikroskop verfolgbaren Transport von ungelösten Stoffen (Fetttröpfchen) und der Aufnahme gelöster Substanzen mit dem zugehörigen Lösungsmittel. Während für die Resorption von Fetttröpfchen die Annahme einer Tätigkeit von Zellorganen unabweisbar ist, kann man für die Aufnahme von Lösungen die Gesetze der Osmose und Diffusion zur Erklärung heranziehen. Zahlreiche Untersuchungen haben aber gelehrt, daß diese physikalischen Gesetze nicht restlos die Aufnahme der gelösten Stoffe erklären können, und daß man gezwungen ist, auch bei der Resorption von Lösungen auf die Lebenstätigkeit der Zelle zurückzugreifen. Wenn nun auch die Aufnahme von Flüssigkeit und gelöstem Stoff nicht in jedem Fall eine aktive Zelltätigkeit zur Auslegung verlangt, sondern wenn eine ganze Reihe von Erscheinungen nach den Gesetzen der Osmose und Diffusion verlaufen, so bleiben, wie oben gesagt, doch immer noch Beobachtungen genug übrig, die eine physikalische Erklärung nicht zulassen. Man ist bestrebt gewesen, diesen „physiologischen Faktor" dadurch näher zu präzisieren, daß man bei den Erscheinungen, die man am Dünndarm beobachtete, die Wanderungen von gelöstem Stoff und Lösungsmittel durch Diffusion und Osmose von denjenigen Vorgängen abtrennte, die einer Erklärung bisher nicht zugänglich sind und abhängig von der Lebenstätigkeit der Dünndarmschleimhaut erscheinen.

Drei Wege sind es gewesen, auf denen man dieses Ziel erreichte. Einmal verglich man den Resorptionsvorgang des Dünndarms mit den Austauscherscheinungen an toten oder vergifteten tierischen Membranen, resp. an solchen, welche gewöhnlich der Resorption nicht dienen. Zweitens schaltete man die Möglichkeit von physikalischer Wanderung dadurch aus, daß man den überlebenden Darm, innen und außen in die gleiche Flüssigkeit tauchend, beobachtete. Und endlich variierte man die physikalischen Bedingungen durch Anwendung von Lösungen mit verschiedenen physikalischen Eigenschaften.

Die erste für unsere Kenntnis äußerst fruchtbare Methode, den Vergleich der Austauscherscheinungen am intakten Darm mit denen an anderen Membranen hat Cohnheim[1]) angewandt. Er konnte zeigen, daß die Darmschleimhaut eine Sonderstellung einnimmt. Der Autor verglich das Schicksal einer hypotonischen Zuckerlösung, welche in den Peritonealraum von Kaninchen eingeführt wurde, mit dem einer ebensolchen im Dünndarm und stellte fest, daß nach einiger Zeit ein Teil beider Lösungen resorbiert war, und daß sie nahezu blutisotonisch geworden waren. Während aber im Peritonealsack diese Blutisotonie dadurch erreicht wurde, daß Zucker die Lösung in reichlicher Menge verlassen hatte und dafür Kochsalz bis fast zu seiner Konzentration im Blute hineindiffundiert war, wies die Lösung im Darm bei einem höheren Zuckergehalt nur Spuren von Kochsalz auf.

Es erklären sich also an dem Peritonealüberzug alle Erscheinungen durch die Gesetze der Diffusion und Osmose: Zucker diffundiert hinaus, Wasser wird durch Osmose ins Blut bewegt, Kochsalz und wohl auch andere Blutsalze diffundieren in die Lösung hinein. In den Darm dagegen ist der Übertritt von Kochsalz gehemmt; die Darmwand hat also die Fähigkeit, Blutsalze zurückzuhalten. Außerdem geht die Resorption im Darm bei weitem schneller vor sich. Vergiftet man aber die Darmwand mit Fluornatrium oder Arsenik, so werden die Vorgänge im Darm denen im Peritoneum ähnlich, verlaufen also nach physikalischen Gesetzen (während diese Gifte im Peritonealsack nur die Flüssigkeitsaufnahme herabsetzen). Schaltet man also die Tätigkeit der lebenden Zelle in der Darmschleimhaut aus, so treten die Gesetze der Osmose und Diffusion in reiner Form hervor; im intakten Darm aber erleiden sie eine Modifikation in der Weise, daß sich eine schwere Durchgängigkeit der Schleimhaut für Blutsalze in der Richtung vom Blut zum Darmlumen dazugesellt.

Cohnheim[2]) hat diese Studien dadurch erweitert, daß er in Versuchen am überlebenden Darm nachwies, daß auch hier noch eine Wanderung an Flüssigkeit vom Darminnern nach der Außenseite des Darmes stattfindet, und zwar auch dann, wenn außen und innen sich die gleiche

---

[1]) Cohnheim, Über die Resorption im Dünndarm und der Bauchhöhle. Habilitationsschrift, Heidelberg 1898.

[2]) Cohnheim, Versuche am überlebenden Darm. Zeitschr. f. Biol. 38, N. F. 20, 419, 1899.

Lösung befindet, wenn also Osmose und Diffusion nicht in Frage kommen können. Desgleichen entfaltet der Darm von Holoturien, den man mit Meerwasser füllt und in Meerwasser einhängt, nach demselben Autor[1]) eine resorbierende Tätigkeit. Endlich hat Reid[2]) gezeigt, daß durch ein Stück überlebende Darmschleimhaut des Kaninchens ein Flüssigkeitsdurchtritt von der Schleimhautseite nach der Serosa auftritt, wenn man ein solches Stück zwischen zwei Gefäße ausspannt, die mit derselben Lösung gefüllt sind. Es findet also ein Flüssigkeitstransport im Sinne einer Resorption unabhängig von physikalischen Gesetzen durch die Tätigkeit der lebenden Darmwand statt. — Sodann haben Höber[3]) und seine Schüler in ausgedehnten Untersuchungen die Resorption verschieden diffusibler Stoffe, die Resorption von isotonischen, hypotonischen und hypertonischen Lösungen verfolgt und gefunden, daß die Diffusion für die Schnelligkeit der Aufnahme von großer Bedeutung ist, in der Weise, daß leicht diffusible Körper auch besser resorbiert werden als schwer diffusible. Ferner zeigte Höber[4]), daß lipoidlösliche Stoffe leichter aufgenommen werden als lipoidunlösliche Körper, wohl deswegen, weil den ersteren Substanzen der Weg durch die Zellen sowohl wie durch die Intercellularräume offen steht, während lipoidunlösliche Stoffe die Zellen selbst nicht zu durchdringen vermögen.

Aus allen diesen Untersuchungen geht hervor, daß zwar die Vorgänge der Osmose und Diffusion eine große Rolle bei der Dünndarmresorption spielen, daß aber eine restlose Erklärung derselben durch die physikalischen Gesetze — soweit wir heute sehen — nicht möglich ist. Es gesellt sich eine Triebkraft in der Richtung vom Darmlumen zum Blut und eine einseitige Permeabilität, die die Blutsalze am Hineindiffundieren in den Darm hindert, hinzu; beides ist an die Lebenstätigkeit der Zellen geknüpft.

Die Meinungen über das Zustandekommen dieser vitalen Erscheinungen sind verschieden. Zunächst kann, wie Höber[5]) bei der Besprechung der Resorption in seinem Lehrbuch angibt, der Zottenmechanismus Brückes nicht für alle Fälle in Frage kommen; denn der Holoturiendarm, an dem Cohnheim[6]) eine Resorption konstatierte, besitzt keine Zotten. Sodann muß man von der naheliegenden Erklärung

---

[1]) Cohnheim, Versuche über Resorption, Verdauung und Stoffwechsel der Eosinodermen. Zeitschr, f. physiol. Chem. 33, 9, 1901.

[2]) Reid, British med. Journ. 1892 u. Journ. of Physiol. 26, 436, 1901, zit. nach Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl., S. 320, Leipzig 1906.

[3]) Höber, Pflügers Archiv 74, 246, 1899, u. Katzenellenbogen. Pflügers Archiv 114, 525, 1906.

[4]) Höber, Pflügers Archiv 74, 246, 1899, u. Katzenellenbogen, Pflügers Archiv 114, 525, 1906, u. Höber, Pflügers Archiv 86, 199, 1901.

[5]) Höber, Lehrbuch der physikalischen Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl., S. 320, Leipzig 1906.

[6]) Cohnheim, l. c.

einer Druckkraft durch Kontraktion der Darmwand angesichts des Versuches von Reid[1]) Abstand nehmen. Cohnheim[2]) hat geglaubt, die Triebkraft vom Darmlumen ins Blut hinein auf die einseitige Permeabilität der Darmwand, auf das Zurückhalten der Blutsalze, zurückführen zu können. „Ja, es wäre nicht undenkbar, daß die Fähigkeit der leichten Diffusibilität nach der einen Seite, der völlige Undurchlässigkeit nach der anderen Seite den wichtigsten Anteil an der Resorption hat." Umgekehrt hat Höber[3]) die einseitige Durchlässigkeit der Darmwand auf einen Filtrationsstrom vom Darm aus zurückgeführt, welcher der Diffusion von Blutbestandteilen in den Darm hinein entgegengerichtet ist und sie für gewöhnlich hindert. Wenn aber dieser aktive Flüssigkeitstransport vom Darmlumen in die Gewebe und ins Blut hinein dadurch überkompensiert wird, daß eine stark hypertonische Lösung im Darm einen Einstrom von Flüssigkeit veranlaßt, so werden die Blutbestandteile mitgerissen und die einseitige Durchlässigkeit des Darmes durchbrochen.

Es ist nun möglich, diese Ansichten experimentell auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Das heißt: man kann feststellen, erstens, ob die Resorption auf der Durchlässigkeit des Darmes in nur einer Richtung beruht, oder zweitens, ob die Triebkraft, vom Darmlumen aus wirkend, der Grund für das Zurückhalten von Blutbestandteilen durch die Darmschleimhaut ist.

Der Weg, den ich beschritten habe, schließt sich in gewissem Sinne an die Methode Cohnheims an, das Schicksal einer Lösung im Dünndarm, der wichtigsten resorbierenden Membran, mit dem einer gleichen Lösung in einer für gewöhnlich nicht resorbierenden Membran zu vergleichen. Die oberen Abschnitte des Dünndarms weisen eine lebhaftere Resorption auf als die unteren, und es müßten daher die höher gelegenen Teile des Dünndarmes ein Bild des Vorganges entwerfen, das für die Darmresorption typischer wäre als die unteren Abschnitte, die den anderen tierischen Membranen in ihrer Aufsaugungsfähigkeit näher stehen. Das heißt also: wenn die einseitige Durchgängigkeit des Darmes die Ursache der Resorption ist, so müßte diese einseitige Durchgängigkeit am schärfsten in den am besten resorbierenden oberen Dünndarmabschnitten hervortreten. Wenn dagegen die vitale Triebkraft der Grund für die Undurchgängigkeit der Darmwand für Blutbestandteile in der Richtung zum Darmlumen hin ist und das Hineindiffundieren

---

[1]) Reid, l. c.

[2]) Cohnheim, Über Dünndarmresorption. Zeitschr. f. Biol. 36, N. F. 18, 152, 1897.

[3]) Höber, Lehrbuch der physikal. Chemie usw., S. 324.

derselben in den Darm hindert (weil sie dieser Diffusion entgegengerichtet ist), so müßte der Durchtritt von Kochsalz dann am größten sein, wenn diese vitale Triebkraft durch einen osmotischen Einstrom von Wasser in den Darm überkompensiert wird (d. h. nach Einbringen von stark hypertonischen Lösungen).

Ich habe diese Fragen in der Weise zu lösen gesucht, daß ich allemal den Dünndarm in drei gleich lange Abschnitte teilte und in diese Abschnitte gleiche Mengen hypotonischer oder hypertonischer Zuckerlösungen einführte; nach $^1/_2$ Stunde wurde die Resorption einerseits, der Durchtritt von Kochsalz andererseits bestimmt.

Die Tatsache, daß die oberen Abschnitte des Dünndarms besser resorbieren als die unteren, ist bekannt. Röhmann[1]) hat für Stärke in den höheren Darmteilen ein besseres Resorptionsvermögen gefunden. Nagano[2]) konstatierte dasselbe Verhalten für Monosaccharide, und zwar wurde „im oberen Teile des Darmes Zucker verhältnismäßig schneller resorbiert als das Wasser, im unteren das Wasser verhältnismäßig schneller als der Zucker". Die absoluten Wassermengen, die resorbiert wurden, waren aber gleichfalls wie die Zuckermengen im Jejunum größer als im Ileum. Für die Disaccharide fanden Röhmann und Nagano[3]) auch die schnellere Resorption in den oberen Abschnitten des Dünndarms, und gleichzeitig stellten die Autoren fest, daß auch die Zerlegung des Zuckers im Jejunum schneller vor sich ging als im Ileum. Dagegen konstatierte Lieblein[4]) für Peptonlösungen eher ein besseres Resorptionsvermögen in den unteren Darmabschnitten; berechnet man aber das Mittel, so ergibt sich eine Resorption der oberen Schlinge von 32,027 mg N, der unteren von 29,396 mg N, also kein nennenswerter Unterschied, während die Einzelversuche stark variieren. Berechnet

---

[1]) Röhmann, Über Sekretion und Resorption im Dünndarm. Pflügers Archiv 41, 411, 1887.

[2]) Nagano, Zur Kenntnis der Resorption einfacher, im besonderen stereoisomerer Zucker im Dünndarm. Pflügers Archiv 90, 389, 1902.

[3]) Röhmann und Nagano, Über die Resorption und die fermentative Spaltung der Disaccharide im Dünndarm des ausgewachsenen Hundes. Pflügers Archiv 95, 533, 1903.

[4]) Lieblein, Über die Resorption von Peptonlösungen in verschiedenen Abschnitten des Dünndarms. Zeitschr. f. Heilkunde (Chirurgie) 27, 201, 1906.

man dagegen, wie es Lieblein tut, die Resorption pro Gramm Schleimhaut, so resorbiert 1 g Schleimhaut oben 1,496 mg N, unten 2,358 mg N; d. h. bei dieser Betrachtung ergibt sich allerdings in den tieferen Teilen ein besseres Resorptionsvermögen für Pepton.

In den nachfolgenden Versuchen habe ich sowohl für Wasser wie für Zuckerlösungen in Übereinstimmung mit den Autoren, welche Zuckerlösungen untersuchten, in den oberen Darmabschnitten eine ausgiebigere Resorption gefunden.

Schon früher habe ich[1]) an 6 Hunden konstatieren können, daß nach Einbringen von 7,5%igen Glaubersalzlösungen die Kochsalzsekretion in den oberen Teilen eine größere ist als in den tieferen Abschnitten des Darmes. Es erschien aber nötig, diese Befunde mit Rücksicht auf die vorliegende Frage in der Weise zu ergänzen, daß man nachwies, daß tatsächlich in denselben Versuchen oben eine bessere Resorption — bei größerer Kochsalzausscheidung — stattfindet als unten. Ich habe daher diese Versuche dadurch modifiziert, daß ich an Stelle des schwer resorbierbaren Glaubersalzes einen gut resorbierbaren Stoff setzte und seine Resorption bestimmte. Sodann war es nötig, nicht nur hypertonische Lösungen zu prüfen, sondern auch hypotonische Lösungen und ihre Aufnahme sowohl wie die Kochsalzausscheidung in sie hinein in den verschiedenen Abschnitten zu bestimmen. Dabei fanden die früher erhobenen Befunde ihre Bestätigung.

Die Hunde wurden durch Morphinäther betäubt, der Dünndarm unter Ausschluß des Duodenums, also unterhalb der breiten Anheftungsstelle des oberen Dünndarms an die Rückwand beim Hunde, in drei möglichst gleich lange Teile geteilt, abgebunden und mit den entsprechenden Lösungen gefüllt. Verwandt wurde Merckscher Traubenzucker nach Soxhlet, der auf der Apothekerwage (nicht analytischen Wage) abgewogen wurde. Nach einer halben Stunde, vom Zurückbringen der Därme in die Peritonealhöhle an gerechnet, tötete ich die Hunde durch Chloroform, nahm den Darm heraus und bestimmte die restierende Flüssigkeitsmenge nach Filtrieren durch lockere Glaswollfilter, die nur die gröberen Beimengungen, wie Würmer usw., zurückhielten. Darauf wurde der Zucker gewichtsanalytisch

[1]) E. Frey, Die Kochsalzausscheidung im Dünndarm. Pflügers Archiv 123, 515, 1908.

nach Allihn, das Kochsalz durch Veraschen, Schmelzen mit Salpeter, Fällen mit Silberlösung und Zurücktitrieren mit Rhodanammon bestimmt. Immer sind Doppelanalysen ausgeführt worden und die Mittelwerte aus den gut stimmenden Analysen eingetragen worden. Die Bestimmung des Gefrierpunktes geschah mit dem früher von mir (mit einer kleinen Modifikation angebenen und) benutzten Instrument, das von der Technischen Reichsanstalt geeicht war, unter den üblichen Kautelen. Die Längen der Darmabschnitte sind nach dem Herausnehmen gemessen, die Werte unterliegen den bekannten Fehlern.

Tabelle I. (Dauer $^1/_2$ Stunde.)

Hund g	Schlinge cm		Flüssigkeit ccm	Flüssigkeit Δ	NaCl g	NaCl %	Eingeführte Lösung	Bemerkungen
6000 ♂	obere	Eingeführt	50				H_2O	
	82	Erhalten	0					
		Resorbiert	50					
	mittl.	Eingeführt	50				H_2O	
	78	Erhalten	0					
		Resorbiert	50					
	untere	Eingeführt	50				H_2O	
	67	Erhalten	12		0,0420	0,35		(Noch etwas Kot beigemengt)
		Resorbiert	38					
7000 ♂	obere	Eingeführt	100				H_2O	
	81	Erhalten	27		0,1053	0,39		
		Resorbiert	73					
	mittl.	Eingeführt	100				H_2O	
	82	Erhalten	57		0,114	0,20		
		Resorbiert	43					
	untere	Eingeführt	100				H_2O	
	87	Erhalten	61		0,0976	0,16		
		Resorbiert	39					
ca. 7000 ♀	obere	Eingeführt	50	−0,18°			1,5% Zucker	
	40	Erhalten	0					
		Resorbiert	50					
	mittl.	Eingeführt	50	−0,18°			1,5% Zucker	
	52	Erhalten	0					
		Resorbiert	50					
	untere	Eingeführt	50	−0,18°			1,5% Zucker	(Nur 1 Chlorbestimmung)
	36	Erhalten	9	−0,50°	0,0360	0,40		
		Resorbiert	41					

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß sowohl Wasser wie auch eine 1,5%ige Zuckerlösung den oberen Dünndarm schneller verläßt als den unteren. Der erste Versuch zeigt, daß die obere und mittlere Schlinge die 50 ccm Flüssigkeit nach 1/2 Stunde vollkommen resorbiert hatte. Der beträchtliche Kochsalzgehalt von 0,35% in der unteren Schlinge weist darauf hin, daß wir es schon mit dem Endzustand des Resorptionsvorganges zu tun haben. Immerhin ist zu bemerken, daß eine stark hypotonische Lösung eingeführt wurde. Dasselbe Verhalten sieht man im letzten Versuch, wo ebenfalls eine hypotonische Lösung zur Resorption kam. Wie ich[1]) früher zeigte, sezerniert der Darm — auch dieselbe Schlinge eines Vellahundes — in destilliertes Wasser und dünne Zuckerlösungen größere Mengen Kochsalz als in konzentrierte chlorfreie Lösungen. Eine Läsion des Darmepithels durch die konzentrierten Lösungen ist dabei ausgeschlossen, da ja eben weniger, nicht mehr Kochsalz in den Darm übertritt. Eine Schädigung durch destilliertes Wasser auf der anderen Seite ist aber aus weiteren Versuchen zu verneinen; denn auch 1,5%ige und 6%ige Zuckerlösungen geben denselben Ausschlag. Und bei Anwendung dieser Konzentrationen kann es sich wohl um eine Schädigung nicht handeln. Die Diskussion dieser Befunde in Hinsicht auf unsere Anschauungen der Resorptionsverhältnisse habe ich bis jetzt verschoben, weil ich die Kochsalzausscheidung bei gut resorbierbaren Lösungen in den verschiedenen Abschnitten des Darmes unter gleichzeitiger Bestimmung der Resorptionsgröße erst untersuchen wollte. Im zweiten Versuch — nach Einführen von 100 ccm Wasser — sieht man, daß die oberen Teile des Dünndarmes bei besserer Resorption auch größere Mengen von Kochsalz absondern. Darauf, daß es bei diesen Betrachtungen lediglich auf den Prozentgehalt des Kochsalzes in der zurückbleibenden Flüssigkeit ankommt, nicht auf die absoluten Mengen, habe ich schon früher hingewiesen.

Es haben auch hier die oberen Abschnitte des Dünndarmes den Zucker besser resorbiert als die unteren. Hand in Hand mit dieser besseren Resorption geht auch eine leichtere Durchgängigkeit der oberen Teile des Darmes

[1]) E. Frey, Die Kochsalzausscheidung im Dünndarm. Pflügers Archiv 123, 515, 1908.

für Kochsalz. Die letztere Tatsache — hier an hypotonischen gut resorbierbaren Lösungen erhoben — stellt also eine Bestätigung meiner früheren Befunde nach Einführen von 7,5 $^0/_0$igen Glaubersalzlösungen dar. Auch dort fand sich oben mehr Kochsalz als unten im Darm.

Auch nach Einführen hypertonischer Zuckerlösungen finden wir dieselben Verhältnisse: eine bessere Resorption der oberen Abschnitte und einen höheren Kochsalzgehalt der zurückbleibenden Flüssigkeit in den oberen Teilen. Die gleichzeitig resorbierten Flüssigkeitsmengen sind auch im Jejunum größer als im Ileum, resp. der Wasserverlust in die 10 $^0/_0$ige Zuckerlösung hinein ist oben geringer. Bei sehr schwer resorbierbaren Lösungen, wie Glaubersalzlösung, findet man dies nicht, dort ist die Wasserabscheidung in den oberen Teilen erheblicher als in den unteren. Danach scheint einerseits der Dünndarm in seinen höheren Abschnitten auch für Wasser besser durchgängig zu sein, wenn im Darm eine Lösung von hohem osmotischem Druck liegt; andererseits muß aber auch die Triebkraft im oberen Teil eine größere sein, die die Flüssigkeit zur Aufnahme bringt; denn sie vermindert schon die Flüssigkeitsmenge hypertonischer Lösungen, wenn sie leicht resorbierbar sind, zu einer Zeit, wo die unteren Abschnitte noch eine Vermehrung des Volumens ihres Inhaltes aufweisen. — Es ergibt sich also aus dem Vergleich des Verhaltens verschiedener Dünndarmteile: Dort, wo eine gute Resorption Platz greift, treten auch die Blutbestandteile leicht in den Darminhalt über. Danach muß man, unserer ersten Fragestellung folgend, die Vorstellung aufgeben, als sei das Zurückhalten von Blutbestandteilen, die einseitige Permeabilität der Darmwand, die ja in ziemlich ausgedehntem Maße besteht, die Ursache für den Resorptionsvorgang, die Ursache der vitalen Triebkraft, die einen Flüssigkeitsstrom vom Darmlumen ins Blut hinein zustande bringt.

Vergleichen wir den Kochsalzgehalt der zurückbleibenden Flüssigkeiten in Tabelle II mit denen der Tabelle III, also den Übertritt von Kochsalz in verdünnte Lösungen mit dem in hypertonische Flüssigkeiten, so erscheint er bei weitem ausgiebiger in Lösungen hinein stattzufinden, deren osmotischer Druck unter dem des Blutes liegt. Es scheint geradezu die Kochsalz-

Tabelle II.

Hyotonische Zuckerlösungen. Dauer $^1/_2$ Stunde.

Hund	Schlinge		Flüssigkeit		Zucker		NaCl		% des eingeführt. Zuck. resorbiert	Bemerkungen
g	ccm		ccm	Δ	g	%	g	%		
7500 ♀	obere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
(Morphin-	65	Erhalten	18	—0,57°	0,3028	1,6825	0,0558	0,31		
Äther)		Resorbiert	82		1,1972				79	
	mittlere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	50	Erhalten	32	—0,43°	0,6210	1,9409	0,0736	0,23		
		Resorbiert	68		0,8790				58	
	untere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	60	Erhalten	37	—0,41°	0,8971	2,4248	0,0444	0,12		
		Resorbiert	63		0,6029				40	
5500 ♂	obere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
(Morphin-	65	Erhalten	8	—0,44°	0,044	0,55	0,0240	0,30		(nur 1 Chlor-Best.)
Äther)		Resorbiert	92		1,456				97	
	mittlere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	75	Erhalten	17	—0,44°	0,3793	2,2314	0,0469	0,27		
		Resorbiert	83		1,1207				74	
	untere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	77	Erhalten	32	—0,40°	0,7348	2,2963	0,0288	0,09		viel Bandwürmer
		Resorbiert	68		0,7652				51	
9300 ♀	obere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
(Morphin-	48	Erhalten	6	?	0,012	0,2	?	?		
Äther)		Resorbiert	94		1,488				99	
	mittlere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	48	Erhalten	77	—0,39°	0,9696	1,2593	0,1694	0,22		
		Resorbiert	23		0,5304				35	
	untere	Eingeführt	100	—0,17°	1,5	1,5				
	49	Erhalten	55	—0,37°	0,8338	1,516	0,0731	0,133		
		Resorbiert	45		0,6662				44	

wanderung den Ausgleich der osmotischen Drucke des Darminhaltes und des Blutes herbeizuführen.[1]) Dies tritt nicht nur beim Vergleich des Kochsalzgehaltes dünner und konzentrierter Zuckerlösungen hervor, sondern auch, wenn man den Zucker-

[1]) Auch die Versuche Bönningers (Die Substitution des Chlors durch Brom im tierischem Körper, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 414, 1907) ergaben, „daß es in erster Linie Aufgabe des Chlornatriums ist, den Körperflüssigkeiten den der Säugetierzelle adäquaten Konzentrationsgrad zu geben.“

Tabelle III.

Hypertonische Zuckerlösungen. Dauer $^{1}/_{2}$ Stunde.

Hund	Schlinge		Flüssigkeit		Zucker		NaCl		$^{0}/_{0}$ des eingeführt. Zuck. resorbiert	Bemerkungen
g	ccm		ccm	Δ	g	$^{0}/_{0}$	g	$^{0}/_{0}$		
14000 ♂	obere	Eingeführt	50	— 1,14°	5,0	10,0				
(Morphin-	58	Erhalten	43	— 0,63°	1,7113	3,9798	0,0645	0,15		
Äther)		Resorbiert	7		3,2887				65	
	mittlere	Eingeführt	50	— 1,14°	5,0	10,0				
	56	Erhalten	48	— 0,59°	1,8990	3,9563	0,0576	0,12		
		Resorbiert	2		3,1010				62	
	untere	Eingeführt	50	— 1,14°	5,0	10,0				
	64	Erhalten	70	— 0,63°	3,0073	4,2962	0,0420	0,06		
		Resorbiert	-20		1,9927				39	
7200 ♂	obere	Eingeführt	50	— 1,17°	5,0	10,0				
(Morphin-	58	Erhalten	58	— 0,73°	2,8860	4,9760	0,0348	0,06		
Äther)		Resorbiert	- 8		2,1140				42	
$^{1}/_{2}$ Jahr alt	mittlere	Eingeführt	50	— 1,17°	5,0	10,0				
	55	Erhalten	68	— 0,67°	3,9384	5,7920	0,0204	0,03		
		Resorbiert	-18		1,0616				21	
	untere	Eingeführt	50	— 1,17°	5,0	10,0				
	58	Erhalten	64	— 0,68°	3,4866	5,4480	0,0320	0,05		
		Resorbiert	-14		1,5134				30	
7000 ♂	obere	Eingeführt	50	— 1,18°	5,0	10,0				
(Morphin-	53	Erhalten	50	— 0,75°	2,7520	5,5040	0,0650	0,13		
Äther)		Resorbiert	0		2,2480				44	
$^{1}/_{2}$ Jahr alt	mittlere	Eingeführt	50	— 1,18°	5,0	10,0				
	54	Erhalten	57	— 0,73°	3,2079	5,6280	0,0456	0,08		
		Resorbiert	- 7		1,7921				35	
	untere	Eingeführt	50	— 1,18°	5,0	10,0				
	53	Erhalten	66	— 0,69°	3,6669	5,5560	0,0462	0,07		
		Resorbiert	-16		1,3331				25	

gehalt der zurückbleibenden Flüssigkeit in Beziehung zum Kochsalzgehalt setzt. Nach Einführen von konzentrierten Zuckerlösungen weichen die Prozentgehalte an Zucker in den restierenden Lösungen in den einzelnen Darmabschnitten nur wenig voneinander ab, und gleichzeitig liegen auch die an sich schon geringen Prozente Kochsalz dicht beieinander. Größere Unterschiede im Zuckergehalt sieht man in der zurückbleibenden Lösung nach 1,5 $^{0}/_{0}$ igen Zuckerlösungen, hier ist auch der Kochsalzgehalt der ver-

schiedenen Darmabschnitte wesentlich verschieden, dem Sinne nach dem Zuckergehalt entgegengesetzt. Man hat demnach den Eindruck, als diene das Kochsalz zum Ausgleich des osmotischen Druckes der eingeführten Lösung, indem einmal bei geringem osmotischem Druck der eingeführten Lösung viel Kochsalz in den Darm übertritt, sodann aber auch bei verschiedener Resorption des Zuckers aus dünnen Lösungen in verschiedenen Darmabschnitten die fehlenden Zuckerprozente durch Kochsalzprozente ersetzt werden. Dies schließt die Beantwortung der zweiten oben gestellten Frage in sich, ob der vitale Einstrom von Flüssigkeit aus dem Darmlumen ins Blut die Ursache für das Zurückhalten von Blutsalzen durch die Darmschleimhaut ist, da der vitale Flüssigkeitstransport dem Diffundieren der Blutbestandteile entgegengerichtet ist. Entgegen dieser Anschauung sehen wir gerade dort, wo die Flüssigkeitsaufnahme groß ist, bei verdünnten Lösungen, einen reichlichen Übertritt von Kochsalz aus dem Blut in den Darminhalt vor sich gehen und umgekehrt, Kochsalz dann zurückgehalten werden, wenn der Flüssigkeitsstrom vom Blut in den Darm hinein gerichtet ist, beim Einführen von konzentrierten Lösungen.

Man ist somit gezwungen, zwei Versuche zur Erklärung der Resorption aufzugeben: man kann weder die Aufnahme im Dünndarm auf das Zurückhalten von Blutbestandteilen zurückführen noch umgekehrt die einseitige Permeabilität auf den vitalen Flüssigkeitsstrom ins Blut hinein. Infolgedessen wird man diese beiden Vorgänge unabhängig voneinander betrachten müssen.

Wenn man seinen Betrachtungen das verschiedene Verhalten der einzelnen Dünndarmabschnitte zugrunde legt, so beobachtet man den vitalen Flüssigkeitstransport aus dem Darmlumen hinaus gerade dort, wo eine leichte Durchgängigkeit der Darmschleimhaut für gelöste Stoffe in beiden Richtungen sich zeigt, und es erscheint als markantestes Zeichen der gut resorbierenden Schleimhaut erstens dieser Stofftransport ins Blut hinein durch die Zelltätigkeit und zweitens gleichzeitig gerade das Fehlen des Charakters als Membran.

Beiträge zum Nachweis und zur Entstehung aromatischer Körper im Organismus.

1. Nachweis von Indol und Skatol.

(Nach Versuchen mit Friedrich Herschmann und Ernst Jacoby.)

Von

Ferdinand Blumenthal.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 18. Juni 1909.)

P. Ehrlich[1]) hat zuerst gezeigt, das der p-Dimethylaminobenzaldehyd mit Indol bei Gegenwart von Salzsäure eine schöne Rotfärbung zeigt, die sich noch in unendlich verdünnten Lösungen des Indols zu dessen Nachweis benutzen läßt.

Eine Reihe von schönen Untersuchungen über die Verwertbarkeit dieses und anderer aromatischer Aldehyde zum Nachweis des Indols und Skatols verdanken wir dann insbesondere französischen Forschern, Denigès[2]), Gautier und Hervieux.[3]) Denigès hat neben dem Dimethylaminobenzaldehyd noch verschiedene aromatische Aldehyde und Furfuraldehyd, ebenso die Propyl- und Allylderivate untersucht und so eine Zahl von neuen Reaktionen geschaffen. Ferner behauptet er, daß der Allylalkohol mit Indollösung erwärmt, unter Zusatz von Salzsäure eine intensive Rotfärbung zeige, die ein breites Absorptionsband in der Nähe des Urobilinbandes zeige. Ganz besonders machte er aber aufmerksam auf die Reaktionen mit

---

1) Medizinische Woche 1901, April.

2) Soc. de Biolog. 64, 295 und 689, 1908

3) Soc. de Biolog. 63, 610.

Zimtaldehyd und mit Vanillin, welche fast ebenso empfindlich wie das Ehrlichsche Reagens (2% alkoholische Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd) sein sollten und daher mit demselben in Konkurrenz treten könnten. Er löste 0,2 der erwähnten Substanzen in 100 ccm Alkohol. Von dieser Lösung fügte er 1/2 bis 1 ccm zu 5 ccm einer alkoholischen Lösung von Indol, versetzte mit mindestens 3 ccm reiner Salzsäure vom spezifischen Gewicht von 1,17 bis 1,18, eventuell mit mehr Salzsäure, und schüttelte gut durch.

Mit Vanillin entwickelte sich eine Eosin- oder Grenadinfärbung, welche im Grün ein breites Absorptionsband zeigte, das über das Blau hinausragt. Mit Zimtaldehyd erhielt er eine mehr oder weniger dunkle Gelbfärbung. Die Empfindlichkeitsgrenze ist mit alkokolischen Lösungen von Indol 1/10 bis 2/10 mg Indol im Liter. Wenn es sich um Benzolauszüge von Indol handelt, so versetzt man 10 ccm mit 0,5 ccm der alkoholischen Lösung von Vanillin oder Zimtaldehyd und dann mit 2 ccm Salzsäure. Die erhaltenen Färbungen, welche dauerhaft sind, sollen sich sehr gut zu einem colorimetrischen Verfahren von Indol eignen.

Ehrlich hatte bekanntlich gezeigt, daß die Rotfärbung, die sich bei der Verbindung von Indol mit Dimethylaminobenzaldehyd bildet, in der Gegend des Gelbgrün 2 Absorptionsstreifen von ungleicher Stärke zeigt. Wenn man nun das Indol in Benzollösungen nachweisen will — ein Verfahren, das sehr häufig für den Nachweis des Indols im Kot das gegebene ist —, so kann man die Reaktion nach Denigès in folgender Weise anstellen. Man fügt zu 10 ccm Benzollösung 2 ccm einer alkoholischen 5%igen Ehrlichschen Lösung, dann 0,5 ccm Salzsäure, und schüttelt stark. Die Salzsäure geht auf den Boden des Reagensglases und färbt sich rotviolett. Fügt man nunmehr in genügender Menge Alkohol hinzu, so kann man das von Ehrlich beschriebene Spektrum erkennen. Denigès hat dieses Verfahren noch weiter geändert, indem er zu 10 ccm Benzollösung nur 2 bis 3 Tropfen Ehrlichsches Reagens hinzufügte und mit 1 bis 2 ccm Salzsäure schüttelte. Bei Gegenwart von Indol färbt sich der die Säure enthaltende Teil mehr oder weniger gelb. Bei Zusatz von Alkohol geht die Farbe über in Carmin- oder Violettrot und zeigt das oben beschriebene Spektrum.

Sehr wichtig ist der von Denigès erhobene Befund, daß die käuflichen Extraktionsmittel für Indol, wie Benzol, Toluol und Xylol, wenn sie nicht ganz rein sind, Substanzen enthalten, die sich mit Indol bei Gegenwart von Salzsäure verbinden und mehr oder weniger schöne Färbungen liefern. Benzol zeigt ein Rotviolett sowie ein schönes Spektrum in Gelbgrün, und mit den Homologen des Benzols bekommt man eine mehr oder weniger starke Gelbfärbung. Diese Färbungen

verschwinden unter dem Einfluß des Wassers, welches den Farbstoff zerstört, besonders bei Anwendung von Benzol. Aber sie bleiben bestehen, wenn man die Flüssigkeit mit konzentrierter Salzsäure oder Essigsäure versetzt. Nach meinen Untersuchungen sind alle Reaktionen der hier beschriebenen aromatischen Aldehyde, welche mit nicht absolut chemisch reinem Benzol, z. B. mit dem gewöhnlichen käuflichen Benzol angestellt sind, gar nicht zu verwerten; so gibt Vanilin mit käuflichem Benzol und rauch. Salzsäure eine prachtvolle Rotfärbung, Heliotropin Rosafärbung usw. Es sind daher alle positiven Indolbefunde in Benzolauszügen, z. B. der Faeces, wie sie sich zahlreich in der Literatur vorfinden, vorsichtig zu beurteilen.

Bei dem Nachweis von Skatol bediente sich Denigès folgender Reaktionen:

1. Vanillin-Reaktion.

Man mischt im Reagensglase 5 ccm einer alkohol. Lösung von Skatol mit 0,2 bis 0,3 ccm einer Lösung, welche 5 g Vanillin in 1 Liter Alkohol enthält und 3 ccm reiner Salzsäure vom spez. Gewicht 1,18, dann bemerkt man zuerst eine schwach gelbliche bis gelbrosa Färbung, die bei starker Verdünnung sehr schwach ist. Die anfängliche Färbung ist im Vergleich zu der mit Indol wenig ausgesprochen. Bald ändert sich die Färbung und im Verlauf von einigen Stunden ist sie schön violett und sehr stark bei Konzentration von 0,2 bis 0,25 mg im Liter, und man kann auch noch 1 mg im Liter bei vertikaler Durchsicht erkennen. Wenn man anstatt 3 ccm Salzsäure 5 ccm zufügt, so wird die Farbe unmittelbar rosa oder rot und ziemlich dunkel, und läßt noch ein Millionstel g Skatol erkennen.

2. Reaktion mit Zimtaldehyd.

Dieselbe Reaktion, mit Zimtaldehyd angestellt, zeigt mit Indollösung eine intensive gelbrote Färbung, welche an alkalische Chromatlösung erinnert, oder bei starken Verdünnungen gelbe Färbung. Sie bleibt einige Stunden unverändert und geht dann mehr oder weniger in Rot über. — Empfindlichkeitsgrenze $^1/_{10}$ bis $^2/_{10}$ Millionen. (Siehe nachher meine eignen Untersuchungen über diese Reaktion.)

Mit Skatol bekommt man eine klare Gelbfärbung, die bei einer Verdünnung von 0,02 g auf 1 Liter kaum bemerkbar ist. Die Gelbfärbung geht allmählich über in Grün, um so langsamer, je geringer der Gehalt an Skatol ist. Wenn man die Reaktion anstatt mit 3 ccm mit

5 ccm Salzsäure anstellt, so geht sie in Rot über, wird dann gelb oder bläulich, wenn man Alkohol zusetzt, und allmählich violett, und zeigt 2 Absorptionsstreifen in Gelbgrün, wenn man noch einige Kubikzentimeter Salzsäure hinzufügt.

3. Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd.

Mit Skatol ist die Farbe der Reaktion fast identisch mit der des Indols, wird aber ziemlich schnell schön violett und nach einigen Stunden blau. Bei stärkerer Konzentration der Skatollösung findet sich, ehe die Blaufärbung eintritt, eine Grünfärbung, welche noch längere Zeit bestehen bleibt. Das Spektrum ist ähnlich dem des durch Indol gelieferten Spektrums. Die Streifen ziehen sich aber bald in einen Streifen zusammen in der Mitte des Rot in dem Moment, wo die Blaufärbung beendet ist. — Empfindlichkeitsgrenze zwischen 3 bis 10 Millionstel.

Denigès betont, daß diese verschiedenen Reaktionen auch mit schwächeren alkoholischen Lösungen der Reagenzien angestellt werden können.

Die Ehrlichsche Probe mit p-Dimethylaminobenzaldehyd hat vor Denigès schon Adolf Schmidt zum Nachweis des Skatols benutzt.

Erwin Rhode[1]) hat gezeigt, daß die Eiweißkörper mit Paradimethylamidobenzaldehyd mit Vanillin und Nitrobenzaldehyd in salzsaurer Lösung unter schöner Farbenbildung reagieren. Steensma hat diese Reaktionen durch Nitritzusatz verfeinert.

Ich hatte die gleiche Idee gelegentlich meiner Untersuchungen über den Nachweis des Indols und Skatols durchgeführt, als ich bei Durchsicht der Literatur sah, daß Steensma[2]) bei einigen Aldehyden den Nitritzusatz bereits zur Erkennung des Skatols benutzt hat. Steensma bediente sich eines Reagenzes, bestehend aus einer 2%igen Lösung von Paradimethylamidobenzaldehyd in Alkohol (96%) und einer Lösung von Natriumnitrit in Wasser (0,5%). Er prüft folgendermaßen auf Indol:

Zu 2 Teilen der Flüssigkeit, welche man auf Indol prüfen will, setzt man 1 Teil des Reagens hinzu und dann tropfenweise 25%ige Salzsäure, bis eine rote Farbe auftritt. Jetzt fügt man vorsichtig 1 oder einige Tropfen einer Natriumnitritlösung (0,5%) hinzu. Die Farbe geht in ein schönes dunkles Rot über. Diese rote Farbe verschwindet ziemlich bald. — Steensma erwähnt, daß es sich hierbei nicht um die Nitrosoindol-Reaktion handelt, denn die Reaktion ist immer intensiver als die Nitrosoindol-Reaktion, und kann auch in sehr verdünnten Lö-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 161.

[2]) Ebenda 47, 25.

sungen, wo die Nitrosoindol-Reaktion schon ein negatives Resultat ergibt, noch positiv ausfallen.

Als sich nun Steensma des Ehrlichschen Reagens zum Nachweis des Skatols bediente, fand er, daß Zusatz von Nitrit eine Blaufärbung hervorrief.

Die Angaben Steensmas kann ich im Prinzip bestätigen; nur finde ich den Verlauf der Indol-Reaktion etwas anders. Ich benutzte ein von Kahlbaum bezogenes Indol, von dem ich 0,1 in 100 ccm 96% Alkohol löste und von dieser Stammlösung wässerige Verdünnungen herstellte. Es zeigte sich, daß eine Indollösung in einer Verdünnung von 1 : 10 000 auf Zusatz einer 2%igen alkoholischen Lösung von p-Dimethylamidobenzaldehyd violettrot wurde und ein breites Band in Gelbgrün zeigte. Versetzt man die Reaktion nunmehr mit 2 Tropfen einer 1%igen Natriumnitritlösung, so wird die Farbe allmählich grenadinrot; sowohl der violettrote Farbstoff als auch der nach dem Zusatz von Natriumnitrit grenadinrot gewordene gehen über in Amylalkohol. Beide amylalkoholischen Auszüge zeigen einen intensiven Streifen im Gelbgrün. — In einer Verdünnung von 1 : 100 000 ist die Reaktion noch stark violettrot, Streifen im Gelbgrün; der amylalkoholische Auszug zeigt ein Band im Gelbgrün; auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit (1%) wird die Reaktion grenadinrot und zeigt ein Band im Grünblau, der amylalkoholische Auszug zeigt ein Band im Gelbgrün und ein schwächeres im Grünblau. — Bei einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 ist die Reaktion noch deutlich, auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit wird sie einen Augenblick etwas stärker, aber bald blasser. Amylalkoholauszüge ohne Streifen. Die Empfindlichkeitsgrenze ist ca. 1 : 5 Millionen. Tritt die Reaktion erst auf Nitritzusatz auf, so beweist sie nichts, da das Reagens mit Nitrit eine schwache Rosafärbung gibt.

Versetzt man eine Lösung von Skatol[1]) von 1 : 10 000 mit einigen Tropfen einer 1 bis 2%igen Lösung von Dimethylamidobenzaldehyd und 2 ccm rauchender Salzsäure (spez. Gewicht 1,19) — dieselbe ist entschieden der gewöhnlichen Salzsäure vorzuziehen —, so entsteht eine schöne

[1]) Von Kahlbaum bezogen, fast indolfrei, gibt in einer Verdünnung von 1 : 1000 keine Nitrosoindol-Reaktion und nur eine sehr schwache Legalsche Probe, die bei einer Verdünnung von 1 : 5000 negativ ist.

violettrote Farbe, die in Amylalkohol mit blaßvioletter Farbe übergeht und einen Streifen im Gelb zeigt. Setzte man vor dem Ausschütteln mit Amylalkohol oder auch nach dem Ausschütteln zum Amylalkohol 2 Tropfen 1 $^{0}/_{0}$ wässeriger Lösung von Natriumnitrit hinzu, so wird die Reaktion schön blau. Im Amylalkohol zeigt sich ein starker Streifen im Rot mit Verdunkelung im Gelb. — Bei einer Verdünnung von 1 : 100 000 wird die Probe violett. Auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit nimmt die Reaktion einen bläulichen Farbenton an; die amylalkoholischen Auszüge sind schlecht gefärbt. — Bei einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 ist die Farbe schwach rosa; auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitritlösung tritt eine Abblassung der Flüssigkeit ein.

Wir werden sehen, daß die Reaktion mit dem Zusatz von Nitrit sich sehr schön gebrauchen läßt, um Indol und Skatol voneinander zu unterscheiden. Während das Skatol auf Zusatz von Nitrit einen blauen Farbenton annimmt, werden die Indollösungen mehr orangefarben und verblassen.

Nimmt man eine Mischung von Indol und Skatol zu gleichen Teilen, und stellt sich eine Verdünnung von 1:10000 her, so wird die Reaktion himbeerrot; der Auszug mit Amylalkohol ist ebenfalls himbeerrot und zeigt ein breites Band im Gelb, teilweise im Grün (wie beim Indol). Auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen 1 $^{0}/_{0}$iger Nitritlösung wird die Reaktion blauviolett (Skatol); der Amylalkoholauszug zeigt das gleiche Band. Bei einer Verdünnung von 1:100000 ist die Reaktion himbeerrot, der Auszug mit Amylalkohol zeigt einen schwachen Streifen im Gelbgrün. Bei Zusatz von Nitrit ist die Nuance ein wenig bläulicher (Skatol), Streifen im Gelbgrün angedeutet. Bei einer Verdünnung von 1:1000000 war die Reaktion negativ. Daraus geht hervor, daß wir in einer Verdünnung von 1:100000 Skatol neben Indol noch zu erkennen vermögen.

Vanillin-Reaktion.

Steensma benutzte eine 5 $^{0}/_{0}$ige Lösung von Vanillin in Alkohol und eine wässerige Lösung von 0,5 $^{0}/_{0}$ Natriumnitrit. Ich benutze eine 10 $^{0}/_{0}$ige Lösung von Vanillin in Alkohol und eine 1 $^{0}/_{0}$ige Natriumnitritlösung und konz. Salzsäure (1,19).

Man kann aber auch Vanillin in Substanz verwenden, was bei alkoholischen Lösungen entschieden von Vorteil ist; denn es scheint, je konzentrierter die Vanillinlösungen sind, desto besser geht die Reaktion. Steensma schildert die Reaktion für Indol folgendermaßen:

Die Farbe ohne Nitrit ist orangerot; diese Farbe wird durch Hinzufügung von Nitrit nicht geändert; Skatol färbt sich ohne Nitrit rotviolett, nach Hinzufügung von Nitritlösung blauviolett. Er schreibt: Diese Reaktion wird durch Indol beeinträchtigt. Es gelingt also nicht, mit Vanillin Skatol neben Indol nachzuweisen.

Meine Erfahrungen sind folgende: Von einer Verdünnung von Indol (1:10000) werden 5 ccm mit 1 bis 2 ccm 10%iger Vanillinlösung und ca. 2 bis 3 ccm konz. Salzsäure versetzt. Orangerote Färbung mit Auslöschung im Grün. Der Farbstoff ist in Amylalkohol löslich, zeigt ein breites Band von grün bis zum Violett. Auf Zusatz von 2 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung wird die Reaktion blasser, allmählich gelb. In einer Verdünnung von 1:100000 ist die Reaktion orangerot; auf Zusatz von Nitrit blaßgelb, Amylalkohol wie oben. In einer Verdünnung von 1:1000000 ist die Reaktion noch deutlich. Empfindlichkeitsgrenze 1:5 Millionen.

Eine Skatollösung (1:10000) zeigt mit Vanillin eine purpurrote Färbung (breites Band in Grünblau), die in Amylalkohol löslich ist, ohne Streifen; auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung wird die Reaktion mehr blauviolett, der amylalkoholische Auszug ist ebenfalls blauviolett, zeigt keinen Streifen. In einer Verdünnung von 1:100000 ist die Reaktion violettrot; auf Zusatz von 1 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung wird sie bläulicher, aber weniger schön. Der amylalkoholische Auszug von beiden Proben ist schwach gefärbt. Die Reaktion in einer Verdünnung von 1:1000000 ist schwach rosa; Nitritzusatz läßt die Farbe verschwinden.

Eine Mischung von Indol und Skatol verhält sich mit Vanillin folgendermaßen: Eine Verdünnung von je 1:10000 zeigt eine tieforangerote Färbung. Im Amylalkoholauszug Band von grün bis violett. Es scheint, als ob die Farben im Amylalkohol undeutlicher werden, als sie vorher waren. Verdünnung von 1:100000: schwach orangerot; auf Zusatz von einem

Tropfen Nitrit scheint die Reaktion einen etwas bläulicheren Farbenton anzunehmen. Im Amylalkohol ist kein Spektralstreifen.

Die Reaktion scheint sich nicht recht zur Erkennung von Skatol und Indol nebeneinander zu eignen.

p-Nitrobenzaldehydreaktion.

Den p-Nitrobenzaldehyd hat Steensma in Substanz angewendet. Er behauptet, daß man mit Indol und Skatol keine Reaktion bekommt. Das kann ich nicht bestätigen. Ich habe allerdings den Nitrobenzaldehyd nicht in Substanz, sondern in 10%iger alkoholischer Lösung benutzt. Indol in einer Verdünnung von 1:10000 gibt eine rote Färbung, die beim Erhitzen deutlicher wird. In Amylalkohol ist der Farbstoff mit roter Farbe löslich, zeigt hierin keinen scharfen Streifen; mit 2 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung wird die Reaktion prachtvoll himbeerfarben und zeigt dann ein Band im Grün. In Amylalkohol mit Himbeerfarbe löslich, zeigt diese ein wenig starkes Band von grün bis blau. Verdünnung von 1:100000 schwach rosa, beim Kochen etwas stärker, im Amylalkohol kein Streifen; Zusatz von Natriumnitrit nach dem Kochen und Wiederabkühlen: schön himbeerrot mit Streifen im Grün, im Amylalkohol Streifen im Grün. Verdünnung von 1:1000000 gibt noch deutliche Reaktion. Empfindlichkeitsgrenze 1:2 bis 3 Millionen.

Skatol. 1:10000: schmutzig grüngrau, in der Kälte negativ; Reaktion tritt beim Erhitzen auf. Amylalkohol: schmutzig gefärbt; auf Zusatz von Natriumnitrit nach dem Erhitzen und wieder Abkühlen wird die Reaktion schön blau, geht über in Amylalkohol und zeigt einen Streifen am Anfang des Grün. Setzt man Natriumnitrit hinzu, ehe man erhitzt hat, so ist die Reaktion schwächer. Verdünnung von 1:100000, Erhitzen blauviolett, Abkühlen und Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit: unverändert; in Amylalkohol mit rötlich-violetter Farbe löslich. Verdünnung von 1:1000000 eben angedeutete rosa Färbung.

Mischung von Indol und Skatol. Je 1:10000 rosa, beim Kochen bläulich-violett. Abkühlen und Zusatz von zwei Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung stark blauviolett. Ohne Nitrit ist die Reaktion viel schwächer als beim Zusatz von Nitrit. Der Auszug mit Amylalkohol zeigt ohne Nitrit kein

Band, mit Nitrit ein Band im Gelb und am Anfang des Grün. In einer Verdünnung von 1:100000 ist die Probe nach dem Erhitzen schwach rosa. Auf Zusatz von Nitrit wird sie etwas deutlicher. Kein Streifen im Amylalkohol.

Die Probe eignet sich dann zur Erkennung von Skatol neben Indol, wenn das Skatol in ziemlicher Konzentration vorhanden ist.

Noch eine Reihe anderer aromatischer Aldehyde, sind geeignet zum Nachweis des Indols und Skatols, so der Protocatechualdehyd. Es wurde eine 5 %ige alkoholische Lösung angewandt.

Protocatechualdehyd-Reaktion.

Man benutzt eine 5%ige alkoholische Lösung und verfährt genau wie bei der Vanillinprobe.

Indol. Verdünnung 1:10000, orangerot; auf Zusatz von 2 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung etwas heller. Die orangerote Farbe geht im Amylalkohol in einen mehr himbeerfarbenen Ton über. Im Spektrum findet sich eine Auslöschung von Gelbgrün bis violett. Verdünnung von 1:100000, orangerot; auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit gelb. Verdünnung von 1:1000000 schwach rosa. Nach 1 Tropfen Nitrit verschwindet die Farbe. Empfindlichkeitsgrenze 1:5 Millionen.

Skatol. Verdünnung von 1:10000, himbeerrot. Der Auszug mit Amylalkohol himbeerrot; Streifen im Grün; auf Zusatz von zwei Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung wird die Reaktion blaurot, der Auszug mit Amylalkohol ist blauviolett ohne deutlichen Streifen. Verdünnung von 1:100000 himbeerrot, mit 1 Tropfen Natriumnitrit wird die Nuancierung mehr bläulich, Auszüge mit Amylalkohol schwach bläulich. Verdünnung von 1:1000000 schwach rosa. Nach Nitritzusatz ver schwindet die Rosafärbung.

Mischung von Indol und Skatol. Verdünnung von 1:10000 orangerot; mit Nitrit schön kirschrot. Amylalkoholische Auszüge: Band von grün bis violett. Beim Erhitzen fällt die Reaktion erheblich stärker aus. Verdünnung von 1:100000 schwach rosa, Nitritzusatz: etwas stärker. Nach dem Erhitzen wird die Reaktion etwas stärker.

Die Reaktion eignet sich nicht recht zur Erkennung von Indol und Skatol nebeneinander.

Heliotropin- (Piperonal-)Reaktion.

Man benutzt eine 10%ige alkoholische Lösung des Heliotropins in Substanz falls es sich um den Nachweis von Indol und Skatol in einer alkoholischen Flüssigkeit handelt, und verfährt genau wie bei der Vanillinprobe.

Indol. Verdünnung von 1:10000 orangerot Amylalkoholauszug: Auslöschung vom Grün bis Blau. Auf Zusatz von 2 Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung blaßt die Probe allmählig stark ab. Verdünnung von 1:100000 orangerot. Farbstoff in Amylalkohol löslich, gelblich-orange, Streifen grün am Blau; auf Zusatz von Natriumnitrit blaßt die Probe ab. Verdünnung 1:1000000 deutlich orange. Empfindlichkeitsgrenze 1:5 Millionen.

Skatol. 1:10000 himbeerrot, in Amylalkohol blauviolett, kein Streifen. Auf Zusatz von 2 Tropfen Natriumnitrit tiefblau; in Amylalkohol löslich mit tiefblauer Farbe; Streifen von der Mitte des Rots ab bis Blau: in dünnen Lösungen von Grün bis Blau. Skatol 1:100000 schwach himbeerrot, in Amylalkohol mit blasser Farbe löslich; auf Zusatz von Natriumnitrit intensiv bläulich, in Amylalkohol löslicher Farbstoff. Skatol 1:1000000 schwach rosa, aber deutlich; Zusatz von 1 Tropfen Nitrit läßt die Farbe verschwinden. Empfindlichkeitsgrenze 1:1 Million.

Mischung von Indol und Skatol. Verdünnung 1:10000 orangefarben, in Amylalkohol mit schwacher Orangefärbung löslich; schwacher Streifen von grün bis violett. Auf 2 Tropfen Nitrit kirschrot; mit Amylalkohol prachtvoll kirschrot. Band grün bis violett.

In dieser Verdünnung ist die Reaktion durch das Spektrum zur Erkennung von Indol neben Skatol geeignet. Eine Verdünnung von 1:100000: Rosafärbung, welche sich auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit nicht ändert; in Amylalkohol löslich ohne Streifen im Spektrum.

Safrol-Reaktion.

Indollösung 1:10000. Schüttelt man eine Indollösung mit ca. 1 ccm Safrol und 1 ccm konzentrierter rauchender Salzsäure, so tritt eine Gelbgrün-Färbung ein, welche bald gelbrot wird. Auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen Natrium-

nitrit gelbbraun. Eine Verdünnung von 1:100000 gibt eine rötliche Reaktion; auf Zusatz von 1 Tropfen Natriumnitrit färbt sich die Lösung gelb. Verdünnung 1:1000000 negativ. Empfindlichkeitsgrenze 1:500000.

Skatol. Nimmt man eine Lösung von 1:10000, so ist die Reaktion negativ. Erst auf Zusatz von Natriumnitrit tritt eine Grünblaufärbung ein. Die Farbe wird bald schmutzig. Viel Salzsäure nehmen und gut schütteln. Bei einer Verdünnung von 1:100000 bleibt die Reaktion negativ, auf Zusatz von Natriumnitrit tritt eine schwache Gelbfärbung ein.

Zimtaldehyd-Reaktion.

Indol 1:10000. Versetzt man ca. 5 ccm dieser Verdünnung mit einigen Tropfen Zimtaldehyd und einigen Kubikzentimetern rauchender Salzsäure, so färbt sich die Lösung schön rot. Auf Zusatz von Natriumnitrit bleibt sie unverändert oder wird etwas mehr braunrot. Eine Indolverdünnung von 1:100000 färbt sich gelbrot und verändert sich nicht auf Zusatz von Natriumnitrit. 1:1000000 Gelbfärbung. Dies ist wohl auch die Empfindlichkeitsgrenze.

Eine Skatollösung von 1:10000 gibt bei Anstellung der Reaktion eine braunrote Färbung, welche auf Zusatz von Natriumnitrit grün wird, Amylalkohol grün, Streifen Anfang des Rots. In einer Verdünnung von 1:100000 ist die Reaktion schwach. Erst auf Zusatz von Natriumnitrit zeigt sich eine schwache gelbgrüne Färbung.

Eugenol-Reaktion.

Indollösung 1:10000, genau wie mit Safrol so mit Eugenol behandelt gibt eine schöne Rosafärbung; erst auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen 1°/₀iger Natriumnitritlösung wird die Reaktion braunrot. Empfindlichkeitsgrenze 1:1 Million.

Skatollösung 1:10000. Auf Zusatz von Natriumnitrit prachtvolle grünblaue oder rein blaue Färbung. Empfindlichkeitsgrenze 1:500000.

Bei allen diesen Reaktionen handelt es sich nach P. Ehrlich und Erwin Rohde um eine Reaktion zwischen der Aldehydgruppe und der reagierenden Gruppe des Indols und Skatols. Es sei hier darauf hingewiesen, daß Tryptophan, ebenso

wie alle diese Gruppe enthaltenden Eiweißkörper nach Kochen mit Salzsäure und Zusatz eines der genannten aromatischen Aldehyde, wenn nach dem Abkühlen Nitrit (1°/₀) zugesetzt wird, die entsprechende Reaktion geben und zwar mit der für Skatol charakteristischen Farbe.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß die Spektren nicht immer deutlich hervortreten. Das Auftreten der charakteristischen Färbung genügt fast immer zum Nachweis.

Andere Reaktionen auf Indol und Skatol.

Glyoxylsäurereaktion (Hopkins). Versetzt man eine Lösung von Indol, 1:10000, mit einigen Kubikzentimetern Glyoxylsäurelösung und derselben Menge konzentrierter Schwefelsäure, so färbt sie sich purpurrot. Nimmt man anstatt Schwefelsäure konzentrierte rauchende Salzsäure, so bleibt die Probe negativ. Setzt man nunmehr einige Tropfen einer 1°/₀igen Natriumnitritlösung hinzu, so wird die Reaktion schön rot und geht in Amylalkohol mit orangeroter Färbung über. Es zeigt sich ein Absorptionsband von grün bis blau. Nimmt man eine Indollösung von 1:1000000, so ist das Resultat noch gerade positiv. Nimmt man eine Skatollösung von 1:10000, versetzt mit einigen Kubikzentimetern Glyoxylsäurelösung und konz. Schwefelsäure, so wird die Reaktion purpurrot. Nimmt man statt Schwefelsäure rauchende Salzsäure, so bleibt die Reaktion negativ, färbt sich auf Zusatz von Natriumnitrit schwach gelblichrot. Im Amylalkohol zeigt sich kein Streifen.

Denigès teilte mit, daß er mit der Legalschen Reaktion noch positive Nachweise zur Erkennung des Indols bekommen hat in Lösungen von 1 mg Indol in 1 l Wasser. Hierbei ist ihm unbekannt geblieben, daß er als eine neue Modifikation der Legalschen Probe eine Reaktion beschrieben hat, welche bereits von Salkowski vor Jahren in dieser Form angegeben wurde. Salkowski hat, wie dies auch in seinem „Praktikum" mitgeteilt ist, bei Anstellung der Legalschen Probe (Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge zur Indollösung) angegeben, daß die Rotfärbung in eine schöne Blaufärbung bei Zusatz von Essigsäure umschlägt.

Die Reaktion ist nach meinen Untersuchungen noch in einer Verdünnung des Indols von 1:500000 zu brauchen.

Skatol gibt diese Probe nicht; es tritt Gelbfärbung nach Zusatz von Natronlauge auf und schwache Violettfärbung beim Ansäuern und Kochen mit Essigsäure.

Die Nitrosoindolreaktion mit Salpetersäure und Natriumnitrit ist positiv bis höchstens zu einer Verdünnung von 1:100000.

Skatol gibt die Probe nicht oder wenigstens nicht mit Rotfärbung, sondern mit Gelbfärbung.

Die Cholerarotreaktion nach E. Salkowski zeigt für Indol eine Empfindlichkeit bis 1:1000000.

Skatol gibt die Reaktion nicht.

Die Formaldehydreaktion (Konto)[1]) (Zusatz von Formaldehyd und konzentrierter Schwefelsäure) mit Indol Rotfärbung, mit Skatol Gelb- bis Gelbbraun-Färbung gibt nach meinen Erfahrungen schon bei Verdünnungen von 1:100000 keine brauchbaren Resultate mehr.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 185.

Elektrolytische Dissoziation und physiologische Wirksamkeit von Pepsin und Trypsin.

Von

Jacques Loeb.

(University of California, Berkeley, California.)

(Eingegangen am 1. Juli 1909.)

1. Es ist bekannt, daß Zusatz von Säure die Wirksamkeit von Pepsin vermehrt und daß die Wirksamkeit von Trypsin durch Zusatz einer geringen Menge Alkali vermehrt wird. Für diese Tatsache fehlt bis jetzt, so weit mir bekannt ist, eine befriedigende Erklärung. Man hat von einer Pepsin-Salzsäureverbindung gesprochen, aber die theoretische Chemie gibt uns keinen Anhaltspunkt dafür, daß derartige Additionsverbindungen chemisch wirksamer sind als die einzelnen Komponenten derselben. Man hat ferner das Alkali bei der Trypsinwirkung und die Säure bei der Pepsinwirkung als Kofermente bezeichnet; aber das Wort Koferment gibt uns ebenfalls keine fördernde Einsicht in die Rolle der Säure bei der Pepsinwirkung.

Dagegen gewinnen wir eine rationelle Erklärung der Wirksamkeit von Säure bei der Pepsinhydrolyse und von Alkali bei der Trypsinhydrolyse, wenn wir von der Voraussetzung ausgehen, daß Pepsin eine schwache Base, Trypsin eine schwache Säure ist. Ich glaube mich zu entsinnen, daß für diese Annahme auch bereits eine tatsächliche Begründung vorhanden ist, vermag aber nicht anzugeben, wo ich darüber gelesen habe.[1]) Gehen wir von dieser Annahme aus, nämlich daß Pepsin eine schwache Base, Trypsin eine schwache Säure ist, so kommen wir zu folgendem Resultat:

---

[1]) Diese Notiz ist während einer Reise geschrieben, wo mir keine Literatur zugänglich war.

Die schwache Base Pepsin muß natürlich mit einer Säure ein Salz bilden, und der gleiche Prozeß muß eintreten, wenn Alkali zu der schwachen Säure Trypsin zugefügt wird. Statt der freien Base Pepsin haben wir alsdann ein Pepsinsalz, und statt der schwachen Säure Trypsin haben wir ein Trypsinsalz. In dieser Salzbildung sehe ich die Ursache der Erhöhung der Wirksamkeit von Pepsin durch Säure und von Trypsin durch Alkali, und zwar auf Grund einer Tatsache, auf die J. Stieglitz jüngst besonders die Aufmerksamkeit gelenkt hat, nämlich, daß die Salze schwacher Basen und Säuren viel stärker elektrolytisch dissoziiert sind als die schwachen Basen und Säuren selbst.

Als bekanntes Beispiel möge NH_4Cl und NH_4OH dienen, von denen bekanntlich das letztere schwach, das erstere stark dissoziiert ist. Für alle Reaktionen, die vom NH_4-Ion abhängen (und nicht vom undissoziierten Molekül), ist also die aktive Masse größer, wenn NH_4Cl als wenn NH_4OH angewendet wird. Wenn wir nun die Voraussetzung machen, daß die katalytische Wirkung von Trypsin und Pepsin vom Pepsin- und Trypsinion, und nicht vom undissoziierten Molekül ausgeht, so ist uns auf einmal die fördernde Wirkung von Alkali auf die Trypsinhydrolyse und von Säure auf die Pepsinhydrolyse klar. Denn dadurch, daß die Säure mit der schwachen Base Pepsin und das Alkali mit der schwachen Säure Trypsin Salze bilden, wird die Dissoziation dieser Fermente und damit die Zahl der nach unserer Ansicht allein für die Fermentwirkung in Betracht kommenden Fermentionen — im Falle von Pepsin ein Kation, im Falle von Trypsin ein Anion — vermehrt; infolge dessen erhöht also der Zusatz von etwas Säure die Wirksamkeit von Pepsin, der Zusatz von etwas Alkali die Wirksamkeit von Trypsin, und zwar durch Erhöhung der aktiven Masse des katalytischen Agens, nämlich des Enzymions. Es läßt sich so wohl auch verstehen, warum beispielsweise nicht alle Säuren gleich günstig auf die Pepsinhydrolyse einwirken. Denn, wie wir durch Arrhenius und Madsen wissen, wird eine schwache Base durch eine schwache Säure nur unvollkommen, durch eine starke Säure aber vollkommen neutralisiert. Vielleicht hängt es damit zusammen, daß beispielsweise Salzsäure günstig, Borsäure und Phosphor-

säure aber weniger günstig auf die Pepsinhydrolyse wirken. Damit soll natürlich die Möglichkeit, daß auch das Säureanion von Bedeutung für die Reaktionsgeschwindigkeit sein könnte, nicht in Abrede gestellt werden.

2. Der hier entwickelte Gedankengang stützt sich auf die schönen Arbeiten von *Stieglitz* und seinen Schülern über die Katalyse von Estern und Imidoestern durch Säuren.[1]) In diesen Arbeiten ist durch quantitative Versuche der Beweis erbracht, daß die Hydrolyse der Imidoester (und der Ester im allgemeinen) nach Maßgabe der Konzentration der positiven Esterionen und nicht nach Maßgabe der Konzentration der undissoziierten Estermoleküle erfolgt. Mit Wasser bildet nach *Stieglitz* der Ester eine Oxoniumbase, also z. B. das Methylacetat die Oxoniumbase dieser Verbindung:

$$(CH_3CO)OCH_3 + HOH \rightleftarrows (CH_3CO) - \overset{\displaystyle H}{\underset{\displaystyle OH}{O}}CH_3,$$

die in folgender Weise ionisiert:

$$(CH_3CO) - \overset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle H}{O}} - CH_3 \rightleftarrows (CH_3CO) - \overset{\displaystyle +}{\underset{\displaystyle H}{O}} - CH_3 + \overline{OH}.$$

Da der Grad der Dissoziation bei dieser Base nur gering ist und da nur das positive *Esterion*, nicht aber das undissoziierte *Estermolekül* für die Hydrolyse in Betracht kommt, so ist der Reaktionsverlauf sehr langsam. Setzt man aber eine Säure, z. B. HCl, zu, so wird die Reaktion stark beschleunigt, und zwar nach *Stieglitz* einfach deshalb, weil der Ester mit der Säure ein Salz bildet, das viel stärker dissoziiert ist als der Ester selbst, der nur eine schwache Base ist. Da nur das positiv geladene Esterion in die Reaktion eintritt, so wird durch diese Salzbildung die Konzentration der Esterionen und damit die aktive Masse der reagierenden Substanz erhöht; daher die Reaktionsbeschleunigung. Damit ist die mysteriöse Reaktionsbeschleunigung durch Säure auf ein rationelles Element zurückgeführt worden, nämlich die Zunahme der aktiven Masse

---

[1]) *Julius Stieglitz*, Studies in Catalysis. Am. Chem. Jour. 39, 29 und 166, 1908.

infolge der Salzbildung. An den Imidoestern, welche gestatten, alle für die Reaktionsgeschwindigkeit in Betracht kommenden Variabelen direkt zu messen, konnte Stieglitz die Richtigkeit seiner Ansicht direkt nachweisen.

3. Es besteht noch eine zweite Möglichkeit, die Einwirkung der Säure auf die Pepsinhydrolyse und die des Alkalis auf die Trypsinhydrolyse abzuleiten, aber das Resultat ist dasselbe. Wir können nämlich von der Voraussetzung ausgehen, daß beide Enzyme, Pepsin und Trypsin, amphotere Elektrolyte sind, was ja sehr wahrscheinlich ist.

Ein amphoterer Elektrolyt OH – R – H kann bekanntlich in der Form $\underset{\mathrm{OH}}{\overset{-}{\mathrm{R}}}$ und $\underset{\mathrm{H}}{\overset{+}{\mathrm{R}}}$ dissoziieren. Fügen wir nun eine Säure, z. B. HCl, zu der Lösung eines solchen amphoteren Elektrolyten, so findet eine Salzbildung statt

$$\mathrm{OHRH} + \mathrm{HCl} = \mathrm{ClRH} + \mathrm{H_2O}.$$

Der Elektrolyt kann in zwei Formen dissoziieren, nämlich in der Form $\overset{+}{\mathrm{RH}}$, $\overset{-}{\mathrm{Cl}}$ und $\overset{-}{\mathrm{RCl}}$, $\overset{+}{\mathrm{H}}$. Ist nun der Elektrolyt nur eine schwache Säure, so muß wegen der großen Dissoziationstendenz der Salze die Dissoziation $\overset{+}{\mathrm{RH}}$, $\overset{-}{\mathrm{Cl}}$ überwiegen, und der amphotere Elektrolyt muß elektropositiv sein. Ich glaube, daß dieses Überwiegen der Dissoziation der Salze über die Dissoziation der schwachen Säuren und Basen auch in letzter Instanz die berühmte Entdeckung von Hardy erklärt, daß Eiweiß durch Zusatz von Säure elektropositiv, durch Zusatz von Alkali elektronegativ gemacht wird. Setzt man nämlich statt einer Säure Alkali zum amphoteren Elektrolyten, z. B. NaHO, so bildet sich NaRHO, wobei der Elektrolyt als Salz oder als Base dissoziieren kann. Da das Salz stärker dissoziiert als die Base, so bildet der Elektrolyt das negative Ion.

Da nun Pepsin durch Säure wirksamer gemacht wird, so führt das zur Annahme, daß Pepsin nur in der Form eines positiven Ions als Enzym bei der Eiweißhydrolyse wirkt; und da Trypsin durch Alkali wirksamer gemacht wird, so müssen wir annehmen, daß Trypsin nur in der Form eines negativen Ions bei Hydrolysen beschleunigt. Wir kommen also auch bei dieser Annahme wieder zu dem Resultat, daß Alkali die Tryp-

sinhydrolyse dadurch beschleunigt, daß es die Masse der allein für die Wirkung in Betracht kommenden negativen Trypsinionen vermehrt und daß die Säure die Pepsinhydrolyse dadurch beschleunigt, daß sie die Masse der für diese Hydrolyse allein in Betracht kommenden positiven Trypsinsäuren erhöht.

Wenn die hier gemachte Annahme einer Salzbildung zwischen Pepsin und Säure und Trypsin und Alkali richtig ist, so sollte sie einer Verallgemeinerung fähig und imstande sein, uns über manche Schwierigkeiten der Enzymchemie hinwegzuhelfen.

Zusatz. Diese Arbeit war vor 3 Wochen geschrieben worden. Inzwischen erschien eine weitere Arbeit von Michaelis[1]), auf welche mich Herr Dr. Wolfgang Ostwald aufmerksam machte, mit dem ich über meine Idee korrespondiert hatte. Michaelis kommt in dieser Arbeit zu dem Schluß, daß nur das Pepsin dann proteolytisch wirkt, wenn es zur Kathode wandert. Ich sehe in diesem Schluß und in Michaelis' Überführungsversuchen eine Stütze meiner Ansicht, daß nicht das Pepsinmolekül, sondern nur das Pepsinkation als Ferment wirkt. Gleichwohl wäre es unrecht, den hypothetischen Charakter dieser Annahme verhüllen zu wollen. Der Umstand aber, daß Bayliss[2]) gefunden hat, daß die Wirksamkeit von Trypsin innerhalb gewisser Grenzen der zugesetzten Alkalimenge direkt proportional ist, weist auf die Möglichkeit hin, daß meine Hypothese sich zahlenmäßig prüfen läßt und daß die bereits existierenden Zahlen für die Richtigkeit derselben sprechen.

---

[1]) Michaelis, diese Zeitschr. 17, 234, 1909.

[2]) Bayliss, The Nature of Enzyme Action, S. 48, London 1908.

Berichtigung.

Bd. 19 S. 106 Zeile 17 von oben:

statt „desselben" lies: „des Wasserstoffsuperoxydes".

Autorenverzeichnis.





